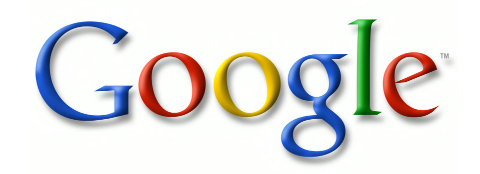


RECUEIL

DE

L'INSTITUT BOTANIQUE

(UNIVERSITÉ DE BRUXELLES)

PUBLIÉ PAR

L. ERRERA

TOME I

AVEC CINQ PLANCHES

GLYCOGÈNE, AMIDON ET AUTRES RÉSERVES NON AZOTÉES



BRUXELLES
HENRI LAMERTIN, ÉDITEUR-LIBRAIRE
20, RUE DU MARCHÉ AU BOIS, 20

1906

RECUEIL

DE

L'INSTITUT BOTANIQUE

RECUEIL

DE

L'INSTITUT BOTANIQUE

(UNIVERSITÉ DE BRUXELLES)

PUBLIÉ PAR

'L. ERRERA

TOME I

AVEC CINQ PLANCHES

GLYCOGÈNE, AMIDON ET AUTRES RÉSERVES NON AZOTÉES

BRUXELLES

HENRI LAMERTIN, ÉDITEUR-LIBRAIRE

20, RUE DU MARCHÉ AU BOIS, 20

1906

HAYEZ, IMPRIMEUR DES ACADÉMIES ROYALES, BRUXELLES



Léo Errera

FONDATEUR DE L'INSTITUT BOTANIQUE

NÉ A LAEKEN LE 4 SEPTEMBRE 1858, DÉCÉDÉ A VIVIER-D'OYE LE 1er AOÛT 1905.

INSTITUT BOTANIQUE

Plan du rez-de-chaussée.

Le Recueil de l'Institut botanique *a été fondé en 1902 par notre regretté professeur Léo Errera.*

Il devait comprendre dans les tomes I à IV tous les travaux faits avant cette date à l'Institut botanique. Ceux rédigés en 1900-1901 parurent seuls dans le volume publié en 1902, le tome V de la collection.

Les tomes VI et suivants, destinés aux futurs travaux de l'Institut, seront continués selon le désir du fondateur du Recueil.

Dans le tome I, qui n'a pu être édité avant ce jour, nous avons ajouté aux ouvrages dont la réimpression fut décidée par le fondateur, des travaux inachevés de Léo Errera sur le Glycogène, très intéressants bien que restés incomplets. Nous y avons également joint les plans de l'Institut botanique et un portrait de son fondateur.

Mai 1906.

J. M.

TABLE DES MATIÈRES

DU TOME I

Tome I, 1906.

(*) Ce chapitre est réservé pour le tome II du *Recueil*.

(*) Voir *Additions*, p. 427.

L'ÉPIPLASME DES ASCOMYCÈTES

ET LE

GLYCOGÈNE DES VÉGÉTAUX (*)

PAR

L. ERRERA.

I

APERÇU HISTORIQUE.

Louis-René Tulasne a observé, il y a plus de trente ans, que le contenu des asques des Truffes se colore, à une certaine période de leur évolution, en « brun-rouge très foncé » sous l'influence de l'iode. Il constate que cette réaction fait défaut aux asques tout jeunes et qu'elle apparaît ensuite, pour diminuer d'intensité à mesure que les asques mûrissent; enfin, quand les spores ont achevé leur développement, la substance qui se colore en brun-rouge par l'iode a disparu [1]. Tulasne n'insiste pas davantage sur

(*) Ce travail (Thèse pour l'obtention du grade de docteur agrégé près la Faculté des Sciences de l'Université de Bruxelles) a paru à Bruxelles, chez H. Manceaux, 1882. La défense publique a eu lieu le 4 novembre 1882.

L. E. 1902.

[1] L.-R. Tulasne et C. Tulasne, *Fungi hypogæi*. Paris, 1851, p. 44; voir aussi pl. VII, fig. I, 6, et l'explication de cette figure.

cette substance et ne semble point l'avoir traitée par d'autres réactifs; il la tient pour une matière albumineuse, ce qui, comme nous le verrons, est une erreur.

Dix ans après, il retrouve et signale en passant une substance semblable dans les asques d'un autre Ascomycète, l'*Erysiphe Aceris* DC[1].

Mais bientôt cette substance fait l'objet de recherches plus approfondies. Dans son célèbre mémoire sur la fructification des Ascomycètes[2], de Bary montre qu'elle est assez répandue chez ces Champignons; en même temps, il en précise l'évolution et en définit les caractères microscopiques. Chez plusieurs espèces, le contenu des asques se différencie, d'après lui, à un certain âge, en deux portions : l'une qui se colore en jaune par l'iode et dans laquelle naissent les spores, — c'est le *protoplasme* proprement dit; — l'autre, que de Bary appelle *épiplasme*, se distingue « par sa réfringence plus forte, son aspect homogène, brillant, et surtout par la teinte brun-rouge ou brun-violacé que lui communique une solution aqueuse d'iode, même très diluée ». L'auteur ajoute[3] : « L'épiplasme du *Morchella* se colore à peine dans une solution de carmin, tandis que le protoplasme prend une vive couleur rouge, notamment dans les jeunes spores. Pour le reste, l'épiplasme concorde, dans ses propriétés essentielles, avec cette partie des cellules végétales qu'on désigne sous le nom collectif de protoplasme. Il n'est guère douteux que ce soit, comme le protoplasme, un mélange de diverses substances. En écrasant les asques, je crois même avoir observé plusieurs fois, directement, que l'épiplasme se séparait dans l'eau en une partie tout à fait homogène, à

---

1 L.-R. Tulasne et C. Tulasne, *Selecta fungorum carpologia*, t. I, 1861, p. 197 : « humor autem quo thecæ replentur saturate eodem (iodo) fucatur, sicuti apud Tubera fieri solet ».

2 de Bary, *Ueber die Fruchtentwicklung der Ascomyceten*. Leipzig, 1863, pp. 8, 22-23 et passim. — Id., *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten*. Leipzig, 1866, pp. 103-104.

3 *Fruchtentwicklung*, p. 23.

laquelle l'iode donne la coloration brun-violet, et une autre, granuleuse, qui devient jaune par l'iode. Je n'ai cependant pu l'établir avec certitude, à cause du mélange inévitable du protoplasme et de l'épiplasme, lorsqu'on écrase les asques. Il y a lieu de faire des recherches plus précises sur la nature chimique du corps qui se colore en brun-violet; on est porté à penser à quelque hydrate de carbone. Ce corps ne se trouve pas seulement dans les asques; les cellules du réceptacle dans des exemplaires jeunes d'*Ascobolus* (*furfuraceus?*) présentent la même réaction par l'iode que l'épiplasme des asques; il en est parfois de même des filaments mycéliens d'*Erysiphe.* »

L'épiplasme a été constaté, en 1863, par de Bary, dans les asques des Ascomycètes suivants, auxquels l'iode communique les nuances indiquées entre parenthèses[1] : *Erysiphe Cichoracearum* DC.[2] (rouge-brun vif avec un léger reflet violet); *Peziza confluens* Pers. (brun-rouge vif); *P. convexula* Fr. S. M. (brun-rouge vif); *Morchella esculenta* Pers. (brun-violet foncé); *Helvella esculenta* Pers.; *H. elastica* Bull.; *P. melæna* Fr.; *P. Acetabulum* L.; *P. cupularis* L.; *P. tuberosa* Bull. (rouge-brun); *P. Candollei* Lév.; *Phacidium Pinastri* Fr. (brun-violet vif, souvent violet presque pur); *Tuber brumale* Vitt. (rouge-brun foncé, teinté de violet); *T. melanosporum* Vitt.; *T. rapæodorum* Tul.; *T. æstivum* Vitt. En revanche, de Bary s'est assuré de l'absence d'épiplasme chez *Elaphomyces granulatus* N. ab E., *Peziza pitya* Pers., *P. hemisphærica* Wigg., *P. calycina* Schum.; il n'en a pas rencontré non plus chez *Xylaria polymorpha* Fr. ni aucun autre Pyrénomycète, pas plus que chez les Lichens.

Il revient en 1866 sur les Pyrénomycètes et dit[3] : « Traité par l'iode, le contenu des asques des Pyrénomycètes ne prend, dans la plupart des cas étudiés, que la couleur jaune du protoplasme;

---

[1] *Fruchtentwicklung*, passim.

[2] [Sous ce nom, de Bary désigne le *Sphærotheca Castagnei*, forme du *Taraxacum*, comme il résulte de son ouvrage ultérieur : *Vergl. Morph. und Biol. der Pilze*, 1884, p. 217. Note ajoutée en 1902.]

[3] *Morphologie und Physiologie*, etc., 1866, p. 105.

cependant chez *Sphæria obducens, Pleospora herbarum, Sordaria fimiseda, Sphæria Scirpi,* il se produit une réaction d'épiplasme bien marquée : chez le premier, l'épiplasme apparaît en même temps que les spores, ou encore auparavant; chez les autres, ce n'est qu'après la formation des spores. »

Quant aux Lichens, qui ne sont plus aujourd'hui qu'un sous-ordre des Ascomycètes, il y a tout lieu de penser qu'ils peuvent aussi contenir de l'épiplasme. On sait que les lichénologues font un grand usage de l'iode comme moyen diagnostique. Mais, leur attention se portant surtout sur la réaction des membranes cellulaires, ils négligent le plus souvent de noter la coloration que prend le contenu. Cependant quelques-unes de leurs indications ont tout l'air de se rapporter à la substance caractéristique de l'épiplasme. En 1852, dans son beau mémoire sur les Lichens, Tulasne avait déjà dit que le protoplasme des stylospores d'*Abrothallus Smithii* Tul. rougit par l'iode[1]. On trouve dans Nylander plusieurs données analogues : ainsi, chez *Myriangium Duriæi* Mont. et Berk., le protoplasme des asques devient d'un brun vineux par l'iode; chez *Arthonia spilomatoides* Nyl. et *Chiodecton stalactinum* Nyl., il devient rouge vineux[2]; chez *Ephebe pubescens* Fr., il brunit[3], etc.

Peut-être doit-on interpréter aussi comme des réactions d'épiplasme, la nuance brun foncé que la teinture d'iode communique, d'après Schwendener, au contenu des filaments ascogènes de *Cœnogonium Linkii*[4]; et la couleur rouge-brun que de Bary a vu prendre au protoplasme des grandes spores d'*Ochrolechia pallescens* Mass., traitées par l'iode. Le contenu des filaments issus de ces spores n'est plus, au contraire, que du protoplasme ordinaire qui devient jaune par l'iode[5].

---

1 L.-R. TULASNE, *Mémoire sur les Lichens.* (ANN. SC. NAT. (3), t. XVII, 1852, p. 114 : « iode protoplasma fucatur ».)

2 NYLANDER, *Ann. sc. nat.* (4), t. III, 1855, pp. 146, 169, 173.

3 ID., *Synopsis methodica Lichenum,* t. I, 1858-1860, p. 90.

4 SCHWENDENER, *Flora,* 1862, p. 231.

5 DE BARY, *Ueber die Keimung einiger grosssporiger Flechten.* (PRINGSHEIM'S JAHRBÜCHER, t. V, 1866-1867, p. 211.)

II

CARACTÈRES MICROCHIMIQUES DE L'ÉPIPLASME DES ASCOMYCÈTES.

En étudiant, il y a quelque temps, la genèse des spores chez les Truffes, — que je me propose de décrire à une autre occasion, — je ne pouvais manquer d'être frappé par l'épiplasme, d'autant plus qu'il gêne passablement l'observation. Quelques essais microchimiques m'ont fait soupçonner que la réaction brune de l'épiplasme est due à du glycogène; je l'ai vérifié par l'analyse chimique et, pour le dire tout de suite, l'hypothèse s'est trouvée exacte.

Je puis tout d'abord confirmer, point par point, les observations de de Bary que j'ai rapportées tantôt; j'ajouterai seulement que l'épiplasme diffère du protoplasme d'une façon encore plus complète que ce savant ne paraît l'indiquer.

Chez les Truffes (*T. melanosporum* Vitt., *T. æstivum* Vitt.), l'épiplasme tapisse la membrane des asques et forme une couche sphérique ou ellipsoïdale, qui entoure un espace intérieur rempli de protoplasme et de suc cellulaire. L'épiplasme est incolore, très réfringent, brillant et comme doué d'opalescence. Malgré son aspect homogène, on doit y distinguer deux éléments : une trame granulo-réticulée, très probablement de nature albuminoïde, et, dans les mailles de cette sorte d'éponge, une solution concentrée de glycogène qui constitue la partie caractéristique et prépondérante de l'épiplasme. Il suffit, pour mettre en évidence ces deux éléments constitutifs, d'écraser un asque de Truffe sur le porte-objet, dans une solution *concentrée* d'iode dans l'iodure de potassium : l'épiplasme ne se mêle pas au liquide, il s'y coagule en une masse granuleuse, colorée en rouge-brun. Vient-on alors à presser légèrement sur le couvre-objet, on voit la substance colorée en rouge-brun se dissoudre peu à peu, tandis qu'il reste un squelette granuleux,

teint en jaune. Pour peu que l'on dilue par addition d'eau distillée, le squelette granuleux se désagrège et se disperse aussi dans le liquide. — Quand on conserve des fragments de Truffes dans l'acide picrique concentré, l'épiplasme perd son homogénéité : il devient trouble, grossièrement granuleux et révèle très bien les deux éléments qui le composent. L'iode colore en rouge-brun le liquide qui baigne les granules et non les granules eux-mêmes. Par écrasement, on met ceux-ci en liberté et l'on remarque qu'ils sont jaunis par l'iode et insolubles, tandis que la partie fluide, rouge-brun, se dissout dans l'eau du porte-objet.

Ces expériences prouvent encore que la substance caractéristique de l'épiplasme est soluble dans l'eau. En variant le liquide du porte-objet et en y écrasant les asques sous le microscope, on reconnaît de même que cette substance est soluble dans les alcalis et les acides, insoluble dans l'alcool et l'éther. Lorsqu'on traite les asques par le carbonate de soude en solution moyennement concentrée, ou qu'on les comprime doucement sous le couvre-objet, sans les briser, l'épiplasme se gonfle, - tantôt d'une façon régulière, en enserrant le protoplasme central dans une sphère de plus en plus petite, tantôt irrégulièrement, en venant se mêler au protoplasme. Ce dernier cas se présente surtout quand on emploie une solution alcaline trop concentrée. Si l'on comprime modérément des asques dans l'alcool absolu, l'épiplasme coagulé se crevasse de fissures radiales, tout comme le font les grains d'amidon [1].

Sous l'action progressive de l'iode dans l'iodure de potassium, l'épiplasme devient jaune pâle, puis jaune-brun, enfin rouge-brun foncé — un rouge-brun semblable à celui des solutions concentrées d'iode dans l'iodure de potassium ou dans l'alcool. — Cette couleur disparaît à une douce chaleur et reparaît par le refroidissement. La

[1] Sur les fissures des grains d'amidon, voy. NÄGELI, *Die Stärkekörner*, 1858, pl. XIII, et pp. 39 sqq. — C'est un fait intéressant que le gonflement de l'épiplasme, de même que celui de l'amidon (W. SCHIMPER, *Unters. üb. das Wachsthum der Stärkekörner*. BOT. ZEIT., 1881, pp. 4-5 du tiré à part), s'obtienne aussi bien par une pression modérée que par les alcalis.

présence d'eau est nécessaire, de même que chez l'amidon, pour que l'épiplasme prenne sa couleur caractéristique par l'iode. Des coupes de Truffes observées dans l'alcool absolu et additionnées de teinture d'iode, ne donnent pas la réaction : elles prennent une teinte jaune ; l'addition d'eau fait apparaître la couleur rouge dans l'épiplasme, en même temps que de l'iode se précipite dans le liquide du porte-objet. En rajoutant de l'alcool, les tissus, y compris l'épiplasme, reprennent la teinte jaune uniforme.

L'acide osmique, le perchlorure de fer, le réactif de Millon ne colorent pas l'épiplasme. L'épiplasme a la propriété de tenir en dissolution de l'oxyde de cuivre qui lui communique une teinte bleue. Pour le démontrer par voie microchimique, le mieux est de procéder de la façon suivante : des coupes fraîches de *Tuber æstivum* ou de *T. melanosporum* sont mises dans un tube à essais, contenant de l'eau distillée ; on ajoute quelques gouttes de potasse caustique et l'on fait bouillir un instant, pour que le réactif pénètre partout. (On n'a pas à craindre que ce traitement ait modifié l'épiplasme, car si à ce moment on lave l'une des coupes et qu'on l'humecte d'une goutte d'iode dans l'iodure de potassium, on voit que l'épiplasme a persisté dans tous les asques où il se trouvait et qu'il affecte sa coloration caractéristique.) On laisse refroidir le tube, on y ajoute quelques gouttes d'une solution faible de sulfate de cuivre ; il se précipite de l'hydrate cuivrique ; on chauffe sans atteindre l'ébullition. On lave les coupes à l'eau et l'on constate au microscope que l'épiplasme y est devenu bleu pâle. Si l'on pousse jusqu'à l'ébullition, les coupes sont salies par de l'oxyde noir, mais on s'assure que l'épiplasme n'a pas réduit à l'état d'oxydule l'oxyde qu'il tient en dissolution.

L'épiplasme conserve très bien son aspect et ses caractères chimiques dans l'alcool absolu ; dans l'acide picrique, il devient trouble, ainsi que je l'ai dit. Mais sa réaction par l'iode persiste toujours, qu'on ait traité les Truffes par l'alcool, l'alcool éthéré, l'acide acétique faible, l'acide chromique à 1 °/₀, l'acide picrique ou l'acide osmique.

Quoique soluble dans l'eau, la matière caractéristique de l'épiplasme est très difficile à extraire des asques : elle ne diffuse pas

sensiblement à travers les membranes cellulaires. Des coupes très minces de Truffes, laissées en contact avec de l'eau froide, digérées pendant deux jours dans l'étuve à 30° centigrades avec du suc gastrique artificiel, ou bouillies dans l'eau pendant plusieurs minutes, conservent leur épiplasme. Même l'acide chlorhydrique dilué n'enlève l'épiplasme aux asques qu'après plusieurs minutes d'ébullition : encore y a-t-il tout lieu de croire qu'il l'a détruit avant de le dissoudre, car il n'est plus possible à ce moment de retrouver, ni dans les asques, ni dans la liqueur chlorhydrique, un corps qui colore l'iode en rouge-brun.

L'épiplasme, frais ou fixé par l'alcool absolu, qu'on examine entre nicols croisés ne rétablit pas la lumière : il n'est donc pas biréfringent.

Les asques de *Tuber Magnatum* Pico contiennent en abondance de l'épiplasme, qui devient rouge-brun par l'iode. Cette espèce en présente même en assez grande quantité dans ses autres tissus, ainsi que *T. excavatum* Vitt., tandis que *T. æstivum* et *T. melanosporum* n'en offrent généralement que fort peu en dehors de leurs asques.

Ascobolus furfuraceus Pers. [1] — Les asques, avant le moment de la formation des spores et peu après, renferment un bel épiplasme réfringent qui devient brun acajou par l'iode dans l'iodure de potassium. Le reste du tissu ne donne, en général, qu'une faible réaction d'épiplasme ; ce n'est que lorsque le Champignon est tout jeune que la réaction y est abondante. Les membranes des asques et des spores jeunes se colorent en bleu pâle par l'iode.

Ascophanus ochraceus Boudier [2]. — Le contenu des asques, des spores jeunes et des cellules végétatives donne une abondante réac-

---

[1] [Janczewski a indiqué déjà (*Bot. Zeit.*, 1871, p. 257) la réaction d'épiplasme chez *Ascobolus furfuraceus*. Note ajoutée en 1902.]

[2] M. Fayod, de Bex, en Suisse, a eu l'obligeance de me signaler cette espèce.

tion d'épiplasme : l'iode y produit une couleur brun acajou intense; les membranes des asques deviennent bleues.

Elaphomyces granulatus Fries, *Peziza pitya* Pers. et *P. granulata* Bull., traités par l'iode dans l'iodure de potassium, ne m'ont pas présenté de coloration brune bien caractérisée [1].

Il en est tout autrement de *Peziza sclerotiorum* Lib. et surtout de *P. vesiculosa* Bull. Le premier contient assez bien d'épiplasme dans les asques demi-mûrs et un peu dans le tissu sous-jacent.

Quant au *Peziza vesiculosa,* je ne connais pas d'objet plus favorable pour l'étude de l'épiplasme et de ses réactions. Par l'iode dans l'iodure de potassium, on voit d'abord bleuir les membranes des asques (notamment un petit bouchon terminal); peu après, tous les tissus du Champignon prennent une coloration brun acajou extraordinairement intense, à l'exception des paraphyses, qui ne contiennent que du protoplasme ordinaire et deviennent jaunes. Dans les cellules végétatives, tout le contenu est teint en brun, par l'iode, d'une façon plus ou moins uniforme; dans les asques, au contraire, on distingue un protoplasme granuleux, teint en jaune, qui donne naissance aux spores, et un épiplasme, homogène et réfringent, coloré en brun. A en juger par les spécimens conservés dans l'alcool, le protoplasme s'accumule vers le sommet de l'asque et l'épiplasme immédiatement au-dessous du protoplasme; mais quelquefois c'est l'inverse qui a lieu. J'ai vu les deux dispositions chez le même individu. [Sur le frais, on trouve à peu près toujours l'épiplasme dans toute la base de l'asque; le protoplasme et, plus tard, les spores, occupent le sommet [2].] L'épiplasme prend une couleur jaune paille par l'eau de brome; on sait que ce réactif colore l'amidon en jaune orangé.

Si l'on chauffe doucement une préparation microscopique traitée

---

[1] [Ultérieurement, j'ai observé du glycogène chez un autre *Elaphomyces* (*E. anthracinus* Vitt.) et chez *Peziza granulata.* Note ajoutée en 1902.]

[2] Remarque ajoutée en 1902.

par l'iode, la couleur brune pâlit et disparaît; elle apparaît de nouveau par le refroidissement.

On peut mettre ici en évidence, mieux encore que chez la Truffe, les deux éléments constitutifs de l'épiplasme : une matière colorable en brun acajou par l'iode et soluble dans l'eau, et une substance granuleuse, spongieuse, qui jaunit à peine par l'iode et que la première imbibe complètement. La partie soluble est du glycogène; le réseau granuleux est sans doute de nature albuminoïde. L'alcool le coagule de façon à emprisonner la partie soluble ; on peut alors couper un asque dans l'eau et mettre ainsi son épiplasme en contact direct avec le liquide, sans que rien se dissolve. L'expérience indiquée à propos des Truffes et qui consiste à écraser l'épiplasme dans une solution concentrée d'iode dans l'iodure de potassium, qu'on dilue ensuite, réussit également avec *P. vesiculosa :* la partie soluble, brune, se dissout et laisse un résidu jaune, de la même nuance que le protoplasme des paraphyses.

L'épiplasme reste incolore quand on le traite par l'acide osmique. Par le réactif de Millon, le protoplasme et les jeunes spores prennent, après un temps variable (15 à 20 minutes à froid, instantanément à l'ébullition), une belle teinte rose; l'épiplasme se colore à peine ou pas du tout.

Comme chez la Truffe, la partie soluble de l'épiplasme est difficile à extraire, ce qui ne peut tenir qu'à sa mauvaise diffusibilité : elle résiste à l'eau bouillante et à l'acide chlorhydrique étendu, agissant dix-huit heures à froid. Mais ce même acide la détruit en peu de minutes à l'ébullition.

En résumé, l'épiplasme se retrouve chez beaucoup d'espèces des divers groupes d'Ascomycètes. L'examen microscopique et microchimique prouve que c'est une masse demi-fluide et qu'elle est formée d'un réticulum, très probablement albuminoïde, tout imbibé d'une solution concentrée dont toutes les réactions concordent avec celles du glycogène animal. L'identité des deux substances est établie par les analyses qualitatives que je vais rapporter.

III

SUR LA MÉTHODE EMPLOYÉE POUR RECHERCHER LE GLYCOGÈNE DES VÉGÉTAUX.

La méthode que j'ai suivie pour rechercher le glycogène et pour l'extraire des Champignons et d'autres végétaux, est celle de Brücke [1]. Dans quelques cas, j'ai été amené à la modifier légèrement.

Brücke fait bouillir, comme on sait, les tissus à analyser avec de l'eau ou de l'eau additionnée d'un peu de potasse caustique; il précipite, dans la liqueur, les albuminoïdes et autres corps azotés, par l'acide chlorhydrique et l'iodure double de mercure et de potassium; il filtre et précipite le glycogène par l'alcool. — Je me suis souvent bien trouvé de précipiter dès l'abord par l'alcool, de reprendre par l'eau et de soumettre la solution aqueuse ainsi obtenue au traitement de Brücke.

Comme je ne me proposais pas de doser le glycogène (dosage toujours peu exact à cause de l'extrême difficulté de retirer les dernières traces de glycogène des cellules), mais surtout de le reconnaître avec certitude et de le séparer d'autres hydrates de carbone qui pouvaient l'accompagner, je n'ai précipité les solutions aqueuses que par deux volumes d'alcool absolu, au lieu d'aller jusqu'à trois volumes, comme on le fait parfois. Je n'ai pas bouilli les organes végétaux avec une solution de potasse, mais seulement avec de l'eau, afin de dissoudre le moins possible de corps azotés et

[1] E. BRÜCKE, *Sitzungsberichte der Wiener Akademie*, Bd LXIII, II, 1871, p. 214, et *Vorlesungen über Physiologie*, 3[te] Aufl., Bd I, 1881, pp. 324-326. — HOPPE-SEYLER, *Handbuch der physiolog.- und patholog.-chemischen Analyse*, 4[te] Aufl., 1875, p. 132.

de ne pas devoir ajouter ensuite trop d'iodure de mercure et de potassium; une autre raison pour éviter la potasse, c'est qu'elle modifie légèrement les propriétés du glycogène et le détruit en partie [1], contrairement à ce que l'on a cru pendant longtemps. — Quand l'examen microscopique indiquait la présence d'amidon, les organes n'ont naturellement été épuisés qu'avec de l'eau froide.

Malgré ces précautions, l'analyse offre souvent quelque difficulté. Les produits d'oxydation bruns qui se forment à l'air dans beaucoup d'extraits végétaux sont particulièrement gênants, parce qu'il s'en attache de petites quantités au précipité de glycogène et qu'on a ensuite la plus grande peine à les éliminer. — Il est bon de remarquer que le glycogène n'est pas le seul hydrate de carbone, soluble dans l'eau froide, qui soit précipité de ses solutions aqueuses par l'addition de deux volumes d'alcool absolu : on verra au § IX que certains corps, voisins des dextrines (amylodextrines), sont encore dans ce cas; l'inuline est aussi précipitée en partie quand elle est en solution assez concentrée. Il faut, chaque fois, une étude attentive pour savoir à laquelle de ces substances, si analogues entre elles, on a affaire. On peut considérer comme caractères distinctifs du glycogène, — ou, plus exactement, des glycogènes, — l'opalescence nette des solutions aqueuses, le pouvoir rotatoire à droite et l'absence de toute réduction du réactif de Trommer. Au contraire, l'inuline, les dextrines et amylodextrines donnent des solutions plus limpides; l'inuline est lévogyre; les dextrines et amylodextrines typiques réduisent le réactif de Trommer, soit par elles-mêmes, soit (ce qui me paraît plus vraisemblable) parce que l'ébullition avec la potasse les saccharifie en partie. Mais il y a aussi chez les plantes des hydrates de carbone intermédiaires, participant à la fois des propriétés des glycogènes et de celles des dextrines; et, dans l'état actuel de la science, il est

[1] von Vintschgau und Dietl, *Ueber die Einwirkung warmer Kalilösungen auf Glycogen.* (Pflüger's Archiv, Bd XIII, 1876, p. 253); — les mêmes, *Weitere Mittheilung über die Einwirkung von Kalilösungen auf Glycogen.* (Ibid., Bd XVII, 1878, p. 154.)

à peu près indifférent de ranger ces corps sous l'une ou sous l'autre de ces deux rubriques.

Il n'est guère à craindre que l'on confonde les glycogènes avec les gommes et mucilages végétaux, quoiqu'ils leur ressemblent par quelques réactions : mais ceux-ci forment avec l'eau des sortes de gelées, tandis que les solutions de glycogènes sont bien fluides, malgré leur opalescence.

C'est surtout chez les plantes supérieures qu'on se heurte aux difficultés dont j'ai fait ici mention. Pour l'épiplasme des Ascomycètes, qui nous occupe d'abord, l'analyse est plus simple et l'identité avec le glycogène du foie, évidente.

IV

EXTRACTION DU GLYCOGÈNE DES ASCOMYCÈTES.

1. Le premier Ascomycète analysé a été le *Peziza vesiculosa* Bull. : la délicatesse de ses tissus, l'absence de pigments foncés, sa richesse en épiplasme le recommandaient également.

Trois exemplaires presque adultes, conservés dans l'alcool, ont été découpés en petits morceaux et additionnés d'eau bouillante. On laisse agir quelques heures et l'on filtre. Le liquide passe très opalescent, à peine acide. On y verse, goutte à goutte, de l'acide chlorhydrique et de l'iodure double de mercure et de potassium, jusqu'à ce qu'un excès de réactif ne produise plus de précipité. On filtre deux fois et l'on additionne la liqueur de deux fois son volume d'alcool absolu. Le précipité qui se forme et qu'on laisse se déposer pendant plusieurs heures est blanc, granuleux; le liquide surnageant est jaunâtre, limpide (A). On filtre; on lave le précipité, d'abord à l'alcool avec un tiers d'eau, puis à l'alcool absolu et on le dessèche dans le vide. Malgré cela, il adhère un peu au filtre et y

forme, par places, un enduit gommeux. Une partie du précipité est détachée du filtre et constitue des grumeaux d'un blanc pur. Le reste, dissous dans l'eau tiède, donne une liqueur très opalescente, neutre, aux papiers réactifs, qui présente exactement toutes les propriétés des solutions de glycogène hépatique des Mammifères. En effet :

1° La liqueur devient fauve, puis brune, par l'addition d'iode dans l'iodure de potassium [1]. Ces nuances sont identiques à celles que le glycogène provenant du foie (du chien) donne dans les mêmes conditions. La chaleur fait disparaître la coloration; le refroidissement la fait réapparaître.

2° L'opalescence se dissipe par la potasse ou la soude caustiques.

3° La liqueur additionnée d'abord de soude, puis de quelques gouttes de sulfate de cuivre, se colore en bleu en dissolvant l'hydrate cuivrique formé et ne précipite rien à l'ébullition (réactif de Trommer).

4° Une partie de la liqueur additionnée de deux volumes d'eau et d'une dizaine de gouttes d'acide sulfurique faible, est bouillie pendant un quart d'heure. Après refroidissement, elle est partagée en deux portions. L'une est traitée par le réactif de Trommer : elle bleuit en dissolvant à froid beaucoup d'hydrate cuivrique et donne, à l'ébullition, un beau précipité rouge d'oxydule de cuivre; — l'autre reçoit un peu de sous-nitrate de bismuth et un excès de carbonate de soude : après quelques minutes d'ébullition, le précipité se colore en gris (réactif de Boettger).

5° Par de la salive assez peu active (et exempte de sucre), la solution a bientôt perdu son opalescence, mais sans acquérir, même au bout de deux heures à une température de 15-20° centi-

---

[1] Pour s'assurer si une liqueur (neutre ou faiblement acide) colore l'iode, le mieux est de mettre dans deux tubes à essais de même diamètre des quantités égales d'une même solution iodée diluée; on ajoute à l'un des tubes un peu de la liqueur à essayer, à l'autre, la même quantité d'eau distillée et l'on compare les colorations. (Cf. Hoppe-Seyler, *Handbuch*, 4te Aufl., p. 132.)

grades, la propriété de réduire l'oxyde de cuivre du réactif de Trommer : c'est évidemment le stade où le glycogène s'est transformé en une sorte de dextrine (glycogène-dextrine de Kühne [1]), mais n'a pas encore donné de sucre [2]. Plus tard, après quinze heures d'action, la liqueur réduit l'oxyde de cuivre et le sous-nitrate de bismuth. — Dans un autre essai, avec de la salive très active, la transformation en un corps réducteur s'est faite en peu de minutes.

6° Enfin la solution aqueuse opalescente, aussi bien que celle qu'on a éclaircie par la potasse, dévient fortement à droite le plan de polarisation.

Il est donc démontré que la substance caractéristique de l'épiplasme de *Peziza vesiculosa* est du glycogène, identique, dans toutes ses propriétés étudiées, avec celui du foie.

J'ai voulu rechercher par la même occasion si l'extrait aqueux de *Peziza* renfermait, à côté du glycogène, des corps analogues aux dextrines, qui seraient encore solubles dans l'alcool avec un tiers d'eau, mais insolubles dans de l'alcool plus fort; je n'en ai pas trouvé. Voici la marche suivie : le liquide alcoolique jaunâtre A (p. 13) a été neutralisé par le carbonate de soude en léger excès : quelques flocons se forment, on les sépare par filtration. La liqueur est ensuite concentrée au bain-marie; il se dépose, à la fin, un composé de mercure, puis une matière colorante orangée. On filtre. La liqueur passe limpide, jaune clair. L'addition de trois volumes d'alcool absolu y provoque un trouble blanc, qu'on laisse déposer. Le dépôt, riche en soude, charbonne à la calcination. Il se dissout dans l'eau; la solution transparente, à peine jaunâtre, alcaline, est acidulée par l'acide sulfurique. Elle ne colore pas l'iode, ne dissout

---

[1] W. Kühne, *Lehrbuch der physiologischen Chemie*, 1868, p. 63.

[2] La réaction que je viens de rapporter n'est pas favorable à la théorie d'après laquelle le glycogène se *dédoublerait*, par l'effet des acides ou des ferments, en dextrine et sucre (maltose); il semble plutôt qu'il ne se forme d'abord que de la dextrine non réductrice et ensuite seulement des corps réducteurs, du moins dans les conditions où j'ai opéré.

ni ne réduit l'oxyde de cuivre, et ne donne pas de corps réducteur par un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique dilué.

Il me reste à mentionner un dernier fait. Si on laisse à l'air, pendant une dizaine de jours, un tube à essais contenant une solution de glycogène de *Peziza* que l'on a brunie par un peu d'iode dans l'iodure de potassium, le liquide perd presque tout son iode libre et la teinte passe au bleu pâle. Le liquide bleu se décolore par une chaleur modérée et bleuit de nouveau par le refroidissement. L'addition d'un peu de la solution iodée ramène la couleur brune primitive. Il est facile de s'expliquer à quoi est due cette particularité, si l'on se rappelle que l'iode colore en bleu les membranes des asques de notre Pezize avant de brunir l'épiplasme. Il y a tout lieu d'admettre que ces membranes sont formées, comme celles de beaucoup de Lichens, d'un mélange de *lichénine* insoluble dans l'eau froide et non colorable par l'iode, et d'*isolichénine* soluble dans l'eau froide, bleuissant par l'iode [1].

Cette dernière substance aurait alors nécessairement été extraite de la Pezize avec le glycogène et, à cause de sa solubilité dans l'eau froide et de son insolubilité dans l'alcool, elle aurait accompagné le glycogène lorsque celui-ci a été précipité. Enfin, comme elle a

[1] Theodor Berg, *Zur Kenntniss des in der Cetraria islandica vorkommenden Lichenins und jodbläuenden Stoffes* (Dissert., Dorpat, 1872); — G. Dragendorff, *Die qualitative und quantitative Analyse von Pflanzen und Pflanzentheilen*. Göttingen, 1882, p. 255. — On admet encore généralement que la lichénine colore l'iode en bleu, mais c'est là une erreur, comme Mulder le soupçonnait déjà et comme Th. Berg l'a bien établi dans le petit travail que je viens de citer et qui est trop peu connu, à ce qu'il semble, même en Allemagne. D'après les recherches de Berg, la coloration bleue tient à un autre corps, isomère ou polymère, l'*isolichénine*, qui accompagne la lichénine et qu'il a réussi à en séparer. Le nom d'isolichénine est de Beilstein (*Handbuch der organ. Chemie*, 1881, p. 602), [comme il me l'a écrit lui-même. 1902]. Dans sa dissertation, Berg appelle ce corps simplement « *jodbläuender Stoff* »; Dragendorff se sert du nom assez impropre de « *Flechtenstärke* ». — La lichénine des auteurs est un mélange de lichénine et d'isolichénine. Pour les propriétés de l'isolichénine, voir Berg, *loc. cit.*

Berg a raison (*Op. cit.*, p. 9) de distinguer soigneusement l'isolichénine d'avec l'amidon soluble; il ajoute toutefois qu'il est probable que l'isolichénine dérive

encore plus d'affinité que lui pour l'iode, c'est elle qui retiendrait les dernières traces d'iode libre, tandis que le moindre excès de ce réactif masquerait le bleu de l'isolichénine sous le brun du glycogène.

2. *Tuber melanosporum* Vitt. — Une Truffe du Périgord a été découpée en petits morceaux, triturée dans un mortier et traitée par l'eau bouillante. On filtre. Il passe un liquide brun-rouge, qu'on additionne d'acide chlorhydrique et d'iodure de mercure et de potassium; on filtre de nouveau. Le liquide filtré est brun, opalescent. On ajoute deux volumes d'alcool absolu, on laisse reposer plusieurs heures et l'on filtre : on obtient ainsi un précipité blond, granuleux. Dissous dans l'eau et précipité de nouveau par trois volumes d'alcool absolu, il forme sur le filtre un enduit collant qui est redissous dans l'eau. La solution ainsi obtenue est jaune très clair, un peu opalescente, neutre; elle brunit très faiblement l'iode dans l'iodure de potassium; ne réduit pas directement le réactif de Trommer; perd son opalescence par un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique très dilué et réduit alors l'oxyde de cuivre.

---

directement ou indirectement de l'amidon des cellules chlorophylliennes du Lichen. Cela peut être vrai pour les Lichens, mais il est certain qu'une réaction bleue des membranes cellulaires, due probablement à de l'isolichénine, se retrouve chez beaucoup d'autres Ascomycètes, qui ne renferment ni Algues ni amidon.

La lichénine et l'isolichénine se rattachent plus aux gommes et mucilages végétaux qu'au groupe de la cellulose, de l'amidon ou de la dextrine, car ces deux substances précipitent par l'acétate basique de plomb, ne réduisent pas l'oxyde de cuivre et laissent à la calcination $^1/_3$ % à 1 % de cendres.

Il est probable que l'isolichénine existe encore ailleurs que chez les Ascomycètes : ainsi la coloration bleu pâle que les membranes cellulaires des cotylédons du Lin prennent par l'iode dans l'iodure de potassium, tient sans doute à un corps très analogue à l'isolichénine. On en peut dire autant de l'*amyloïde* de Schleiden et Frank et de plusieurs des exemples cités par Mohl (*Einige Beob. über die blaüe Färbung der vegetabilischen Zellmenbran durch Jod, Flora*, 1840, ou *Vermischte Schriften*, p. 335).



Le *Tuber melanosporum* renferme donc du glycogène. Mais, quoique l'analyse microchimique en révèle d'assez grandes quantités, on ne parvient à en extraire que fort peu : c'est que les asques arrondis glissent sous le pilon sans se déchirer. Si l'on regarde au microscope les fragments qui ont été triturés et bouillis, et qu'on les humecte d'une solution iodée, on y retrouve encore presque tout l'épiplasme inaltéré.

3. *Tuber æstivum* Vitt. — On éprouve la même peine à extraire le glycogène de cette Truffe que de la précédente. J'ai pris environ 200 grammes de *T. æstivum* jeunes que j'ai pelés avec soin, découpés et hachés. J'ai obtenu de la sorte un peu plus de 100 grammes de hachis; j'ai trituré dans un mortier de porcelaine et j'y ai versé de l'eau chaude. La masse, filtrée à travers un linge, donne un liquide trouble, blond pâle, à réaction un peu acide. Ce liquide est concentré au bain-marie, sans atteindre l'ébullition, et filtré. Il passe brunâtre, opalescent. L'acide chlorhydrique et l'iodure de mercure et de potassium n'y produisent qu'un léger trouble blanchâtre, qui est éliminé par filtration. Le liquide filtré est blond, opalescent et ne précipite plus par HCl et $HgI^2,2KI$. J'y ajoute deux volumes d'alcool absolu : il se produit un précipité blanc, grumeleux et fibrineux, abondant. Filtré. Il passe une liqueur jaune, limpide (B). Le précipité blanc, qui brunit un peu à l'air, est dissous dans l'eau après avoir été lavé à l'alcool avec un tiers d'eau, puis à l'alcool absolu. Sa solution aqueuse, neutre, est concentrée au bain-marie et reprécipitée par deux volumes d'alcool absolu. Les flocons fibrineux et le précipité granuleux ainsi formés sont recueillis sur un filtre, lavés à l'alcool et dissous dans l'eau bouillante. Cette dernière solution est d'un brun très clair, neutre, un peu opalescente. Elle colore faiblement en brun l'iode dans l'iodure de potassium : la nuance est bien celle du glycogène hépatique et diffère de la teinte brune que la solution présentait déjà auparavant. Elle ne réduit pas le réactif de Trommer, mais acquiert la propriété de le réduire après un quart d'heure d'ébullition avec un peu d'acide sulfurique dilué. C'est donc du glycogène. Il n'est pas impossible que ce glycogène soit mélangé d'une certaine

quantité d'un corps analogue à la *dextrane* de Scheibler ou à la *gomme de levure* de Béchamp et Nägeli [1], et provenant probablement des membranes cellulaires; ce qui expliquerait la précipitation sous forme de flocons fibrineux [2]. A côté des flocons, l'alcool précipite du reste, je l'ai dit, une substance granuleuse. La réaction par l'iode et le fait que la solution est opalescente et non gélatineuse prouvent aussi que le liquide renferme bien du glycogène, comme les réactions microchimiques le faisaient prévoir.

Les corps du groupe des dextrines ont encore été recherchés dans la liqueur B. Une nouvelle addition d'alcool produit dans cette liqueur un précipité blanc jaunâtre, un peu visqueux, adhérant bientôt au vase; il charbonne fortement à la calcination, se boursoufle beaucoup et laisse une cendre très blanche. Lavé à l'alcool absolu, puis traité par l'eau, il donne une solution jaunâtre, légèrement acide, non opalescente. La solution ne brunit point par l'iode; additionnée de potasse et de sulfate de cuivre, elle dissout en bleu l'hydrate formé et précipite un peu d'oxydule à l'ébullition; son pouvoir réducteur n'augmente pas sensiblement par un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique très dilué. Notre extrait aqueux de *T. æstivum* renferme donc un corps plus ou moins analogue aux dextrines et difficile à saccharifier. C'est probablement un produit de transformation (*post mortem?*) du glycogène de l'épiplasme; en tous cas, il rappelle l'une des dextrines obtenues par l'action des ferments sur le glycogène : *achroodextrine* de Musculus et von Mering, *dystropodextrine* de

---

[1] Scheibler, *Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie*, Bd XXIV, p. 309 (résumé dans Just, *Botan. Jahresb. für 1874*, p. 804); — Béchamp, *Comptes rendus*, t. LXXIV, p. 187; — Nägeli et Loew, *Sitzungsber. Akad. München*, Bd VIII, 1878, p. 161.

[2] Je note ici, une fois pour toutes, que dans aucune de mes autres analyses les corps que je rattache au glycogène ne se sont précipités sous une forme fibrineuse par l'alcool (différence d'avec la dextrane) : le précipité était toujours plus ou moins finement granuleux.

Seegen [1]. Ces auteurs mentionnent expressément la résistance de cette dextrine vis-à-vis des ferments et des acides.

Les analyses que je viens de rapporter en détail montrent qu'il existe du glycogène chez le *Peziza vesiculosa*, le *Tuber melanosporum*, le *T. æstivum*. Il est désirable que d'autres Ascomycètes soient encore examinés à ce point de vue. Mais les caractères microscopiques et microchimiques de l'épiplasme sont si analogues dans tous les Ascomycètes qui en renferment, qu'il est à peine douteux, dès maintenant, que tout épiplasme contienne du glycogène.

V

GLYCOGÈNE CHEZ D'AUTRES PLANTES.

Plusieurs questions se présentent à l'esprit. Les Ascomycètes sont-ils les seuls végétaux qui aient du glycogène? Et s'ils ne sont pas les seuls, cette substance est-elle du moins spéciale aux organismes — animaux et plantes — qui sont incapables de décomposer l'acide carbonique? Le glycogène serait-il, en un mot, l'amidon des êtres sans chlorophylle? Ou bien le retrouve-t-on chez les plantes les plus diverses?

Sans doute, on n'avait constaté jusqu'ici la présence du glycogène que chez une seule plante : un Myxomycète, l'*Aethalium septicum*. Encore est-ce, comme on sait, un de ces organismes limitrophes que le zoologue et le botaniste revendiquent tour à tour. Mais les analyses dont il me reste à donner les résultats

[1] Musculus und von Mering, in *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie*, Bd II, 1878, p. 403; et *Comptes rendus*, t. LXXXVIII, 1879, p. 87; — Seegen, in *Pflüger's Archiv*, Bd XIX, 1879, p. 106.

montrent que le glycogène ou des substances extrêmement voisines se rencontrent chez des Champignons qui ne sont pas ascomycètes, et chez des plantes qui renferment de la chlorophylle.

4. *Aethalium septicum* Fr. (*Fuligo varians* Sommf.). — Bien que les traités de botanique et de chimie végétale les plus récents n'en parlent pas, le glycogène de la « fleur de tan » a été découvert par Kühne dès 1868. Voici tout ce qu'il en dit : « Le protoplasme contractile des Myxomycètes (*Aethalium septicum*) contient de très notables quantités de glycogène, dont l'identité avec celui du foie et des muscles embryonnaires est facile à établir [1]. » Tout dernièrement, le fait a été confirmé de plusieurs côtés : par Berend (dans le laboratoire de Kühne), par Külz, par Reinke et Rodewald [2]. Je n'ai pas cru nécessaire de soumettre l'*Aethalium* à une nouvelle analyse, mais j'ai cherché à constater, par voie microchimique, sous quelle forme le glycogène s'y trouve.

Les plasmodes se colorent en brun orangé par l'iode dans l'iodure de potassium. Cette réaction ne s'étend pas à la couche marginale hyaline (hyaloplasme, « Randschicht », « Hautschicht »); elle n'intéresse que le protoplasme granuleux (polioplasme, « Körnerplasma »), mais je n'ai pas pu décider avec certitude si la substance que l'iode brunit forme de très petites gouttelettes ou si elle imbibe, à l'état de dissolution, la masse protoplasmique. La deuxième alternative me paraît la plus vraisemblable. Ce qui est certain, c'est que le glycogène n'occupe pas ici, comme dans les asques des Ascomycètes, une région distincte et circonscrite. [La nuance brun orangé passe au jaune quand on chauffe et revient

---

[1] W. Kühne, *Lehrbuch der physiologischen Chemie*, 1868, p. 334.

[2] Berend, cité dans Krukenberg, *Vergleichend physiol. Studien, Zweite Abtheilung*. Heidelberg, 1880, p. 55; — Külz, *Pflüger's Archiv*, Bd XXIV, 1881, p. 65; — Reinke und Rodewald, *Studien über das Protoplasma*, 1881, pp. 34, 169. — Ces derniers auteurs estiment à environ 4 3/4 % la quantité de glycogène de l'*Aethalium*. Une si notable accumulation fait prévoir que l'*Aethalium* ne renferme pas, *du moins à ce stade*, de ferment diastatique qui saccharifierait le glycogène; et, en effet, Kühne n'y en a pas trouvé (cité dans Krukenberg, *Unters. aus dem physiol. Institut der Universität Heidelberg*, Bd II, 1878, p. 273).

au brun orangé par le refroidissement. 1902.] Quand on écrase, sous le verre-couvreur, le plasmode traité par l'iode, il passe du brun orangé au jaune : le glycogène se dissout dans l'eau du porte-objet, comme nous l'avons vu chez les Ascomycètes, et il reste un squelette protoplasmique.

L'iode colore en brun le contenu des cellules arrondies et réfringentes des sclérotes; leur membrane prend une belle teinte rose. Ici encore, le contenu passe au jaune lorsqu'on l'amène au contact de l'eau, par écrasement de la cellule. Le glycogène imprègne sans doute uniformément tout le contenu granuleux, car il ne m'a pas été possible de le localiser dans des gouttelettes spéciales.

5. *Agaricus campestris* L. — Sous le microscope, on voit surtout la couche sous-jacente aux jeunes basides se colorer en brun fauve par l'iode dans l'iodure de potassium. Mais la nuance n'est pas une de celles que le glycogène donne d'ordinaire. [Cette coloration est peut-être due à un corps plus ou moins voisin des quinones, comme Thörner l'a indiqué pour *Agaricus atrotomentosus*. 1902.]

L'analyse chimique ne m'a pas non plus révélé avec certitude l'existence du glycogène chez le Champignon de couche [1].

Cinq exemplaires frais, jeunes, ont été découpés, triturés dans un mortier et arrosés d'eau bouillante. L'extrait filtré est acide et d'abord brun pâle; il fonce considérablement à l'air, ce qui gêne l'analyse. On précipite les albuminoïdes par HCl et HgI^2, 2KI; on filtre deux fois, on ajoute deux volumes d'alcool absolu et on laisse se déposer le précipité brun, granuleux, qui s'est formé. Le liquide alcoolique filtré est jaune (C).

Le précipité n'adhère pas au vase comme le font les dextrines. Dissous dans l'eau et reprécipité par l'alcool, il conserve sa couleur brune. Dissous de nouveau dans l'eau, il donne une solution d'un brun foncé, neutre, sans opalescence, qui brunit l'iode (mais comme la solution est elle-même très brune, cela n'est pas probant), et ne réduit ni ne précipite à l'ébullition le réactif de

[1] [Ultérieurement, j'ai pu m'assurer de la présence de glycogène chez ce Champignon. Voir, plus loin, la Note : *Sur le glycogène chez les Basidiomycètes.*]

Trommer. Après un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique très dilué, la couleur brune a persisté, mais la solution a acquis la propriété de réduire abondamment le réactif cupro-alcalin. Notre solution contient donc quelque hydrate de carbone; il se peut que ce soit une sorte de glycogène, mais la matière brune qui l'accompagne rend si incertains l'essai par l'iode et l'examen de l'opalescence, que je m'abstiens de tirer une conclusion.

Le liquide C renferme une substance soluble dans l'alcool avec un tiers d'eau, mais insoluble dans l'alcool fort. Ce liquide, neutralisé par le carbonate de soude, concentré au bain-marie, filtré et additionné d'un grand excès (cinq volumes) d'alcool absolu, dépose en effet lentement une masse visqueuse, brune, qui colle au vase au point qu'on décante sans peine le liquide surnageant, sans en rien entraîner. Cette masse visqueuse, lavée à l'alcool, est reprise par l'eau. La solution est brune; traitée par le réactif de Trommer, elle dissout beaucoup d'hydrate cuivrique en se colorant en bleu-vert et précipite assez bien d'oxydule à l'ébullition. Le pouvoir réducteur paraît augmenter par un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique très étendu. Nous avons donc là un corps analogue aux dextrines; ce n'est ni de la mannite ni de la mycose (tréhalose), car ces deux substances ne réduisent l'oxyde de cuivre que difficilement ou pas du tout [1].

6. *Pilobolus cristallinus* Tode [2]. — La difficulté de réunir une quantité assez considérable de cette Mucorinée et de la débarrasser tout à fait des animalcules qui l'accompagnent, m'a empêché d'en faire l'analyse. Mais ses réactions microchimiques sont si nettes qu'il n'y a, je pense, guère de doute qu'elle renferme du glycogène en abondance.

---

[1] MÜNTZ (*Comptes rendus*, t. LXXVI, 1873, p. 649; — *Ann. Chim. et Phys.*, 1876, t. VIII, p. 56) a signalé la mannite chez l'*Agaricus campestris* et la tréhalose chez plusieurs autres Champignons. Il a trouvé, en outre, chez le *Boletus cyanescens* « un sucre capable de réduire la liqueur cupro-potassique, qu'il n'a pu isoler assez complètement pour en déterminer la nature ».

[2] [Voir aussi, plus loin, la Note : *Glycogène chez les Mucorinées.*]

Le contenu de la grande cellule renflée qui porte le sporange prend, sous l'action de l'iode dans l'iodure de potassium, une teinte brun acajou intense. La substance colorable en brun, que je regarde comme du glycogène, imbibe tout l'utricule protoplasmique dont la paroi cellulaire est intérieurement tapissée. Ce glycogène s'amoncelle, par places, en de petits monticules qui proéminent dans la cavité de la cellule et paraissent avoir la consistance d'un empois d'amidon. Sous une légère pression du verre couvreur, on les voit souvent se détacher de l'utricule protoplasmique et nager quelque temps dans le suc cellulaire sous forme de gouttes plus ou moins sphéroïdales qui changent leurs contours en se dissolvant peu à peu. Si l'on écrase le *Pilobolus* sur le porte-objet, dans une solution iodée, le glycogène se dissout et produit un nuage brun dans le liquide; la coloration se dissipe par une chaleur modérée, pour réapparaître par le refroidissement. Quand la cellule a été écrasée et que le glycogène s'est dissous, le résidu protoplasmique se montre coloré par l'iode en jaune d'or. La membrane de la cellule devient rose ou rose brunâtre par l'iode dans sa partie claviforme voisine du sporange, et généralement jaunâtre à sa base renflée en bulbe [1]. Les cristalloïdes [2] deviennent d'un beau jaune citrin sous l'influenee du même réactif; ils ne se décolorent point par la chaleur.

Les spores de *Pilobolus* renferment aussi des quantités notables de substance que l'iode colore en brun acajou.

Claude Bernard a indiqué dans l'amnios des Ruminants des cristaux d'oxalate de chaux qu'il regarde comme des produits

[1] Cf. KLEIN, *Zur Kenntniss des Pilobolus.* (PRINGSHEIM'S JAHRB., Bd VIII, 1872, pp. 334-337.) Cet auteur a également constaté, sans l'interpréter toutefois, la couleur brun-rouge du contenu après l'addition d'iode, et il ajoute que cette réaction se retrouve chez les autres Mucorinées. — EUG. COEMANS (*Bull. Acad. roy. Belg.*, t. VIII, 1859, p. 204, et *Mém. sav. étr. Acad. Belg.*, t. XXX, 1861, p. 19) avait déjà vu que la membrane cellulaire du *Pilobolus* se colore en rose pâle par l'iode. Quant au protoplasme, ses observations (p. 20) sont moins satisfaisantes. Ajoutons que Coemans signale (*ibid.*) l'existence probable de la cholestérine chez ce Champignon.

[2] KLEIN, *loc. cit.*, p. 337; — VAN TIEGHEM, *Ann. sc. nat.* (6), t. I, 1875, p. 26.

d'oxydation du glycogène[1]; il est intéressant de rapprocher de cette observation, l'oxalate de chaux du *Pilobolus* et de beaucoup d'autres Champignons[2].

7. *Saccharomyces Cerevisiæ* Meyen[3]. — La levure de bière a été bien souvent soumise à l'analyse chimique; on n'y a encore jamais indiqué de glycogène[4]. Je crois pourtant qu'elle en renferme, et il y a même lieu de penser que plusieurs chimistes l'ont déjà eu sous les yeux dans leurs extraits de levure, sans le reconnaître. La grande importance de l'étude de la levure justifie quelques détails à ce sujet.

D'après Nägeli[5], il est au plus haut degré probable que le mucilage qu'on trouve dans les extraits aqueux de levure provienne de la membrane; et que le contenu cellulaire ne renferme pas d'hydrates de carbone (lato sensu) en quantité digne d'être mentionnée.

Cette opinion ne concorde pas très bien avec les faits observés par d'autres chimistes. Ainsi, Pasteur[6] a constaté qu'il se forme beaucoup de sucre par l'ébullition de la levure avec de l'acide sulfurique étendu, lorsque la levure a été bien nourrie; et Schützenberger et Destrem déduisent de leurs analyses que, lorsque la levure vit dans l'eau distillée, elle détruit dans sa propre substance

---

1 Cl. Bernard, *Leç. sur les phénom. de la vie communs aux animaux et aux végétaux*, 1878-1879, t. I, pp. 237-238; t. II, pp. 68-70.

2 de Bary, *Morph. und Physiol. der Pilze, Flechten und Myxomyceten*, 1866, pp. 13-14; — Klein, *loc. cit.*, p. 338.

3 [Voir, plus loin, plusieurs Notes sur le *Glycogène dans la Levure de bière*.]

4 Les anciennes analyses se trouvent réunies et discutées dans Schützenberger, *Les Fermentations* (Bibl. sc. intern.), 1875, chap. IV. — Depuis lors, il y a surtout à citer, au point de vue des hydrocarbonés, les analyses de Nägeli et Loew (*Sitzungsb. der math.-phys. Classe d. k. bayr. Akad. d. Wiss.*, Bd VIII, 1878, pp. 161-188) et celles de Schützenberger et Destrem (*Comptes rendus*, t. LXXXVIII, 1879, pp. 287, 383.)

5 *Loc. cit.*, p. 166.

6 *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 640, cité dans Schützenberger, *Fermentations*, pp. 58-59, 89-90.

« une matière hydrocarbonée qui, au contraire, reste ou est remplacée pendant la fermentation [1] ». La matière détruite ne saurait consister uniquement en graisse, puisque l'autophagie de la levure donne, comme on sait, de l'alcool; ce ne saurait être de la glycose : la levure en renferme à peine. Enfin il est peu vraisemblable que la levure emploie comme combustible la cellulose de ses membranes et forme de l'alcool *directement* aux dépens de cette cellulose. Toutes ces données portent donc à penser, contrairement à l'opinion de Nägeli, que le protoplasme de la levure est mélangé de quelque hydrate de carbone assez facile à saccharifier. Cet hydrate de carbone est-il du glycogène? Cela paraît bien résulter des faits que Nägeli, Loew et moi-même nous avons constatés.

La matière gommeuse retirée d'abord de la levure par Béchamp [2] et dont Loew a fait connaître les réactions, semble évidemment être mélangée de glycogène. Pour l'obtenir, Loew fait bouillir longtemps la levure avec de l'eau, il élimine l'acide phosphorique et les peptones au moyen de l'acétate de plomb et précipite la gomme par un volume d'alcool. Cette gomme (« Hefeschleim », « Sprosspilzschleim ») se dissout dans l'eau en un liquide *faiblement opalescent*, peu diffusible, qui ne réduit pas la liqueur cupropotassique, mais y produit un précipité caséeux bleu clair, se transforme lentement en glycose par l'action des acides, *et dissout l'iode en se colorant en brun;* à l'état de précipité, la gomme « devient d'un rouge-brun par l'iode ». La solution ne précipite ni par le tanin ni par le borax; par l'acétate de plomb, elle ne précipite que si l'on ajoute de la potasse. L'acide nitrique transforme cette gomme en acide oxalique, sans produire d'acide mucique [3]. Tous ces caractères concordent parfaitement avec l'hypothèse d'un mélange de matière gommeuse et de glycogène [4]. Le pouvoir

[1] *Comptes rendus*, t. LXXXVIII, p. 289.
[2] *Ibidem*, t. LXXIV, p. 187.
[3] Nägeli et Loew, *loc. cit.*, pp. 166-167, 180.
[4] [Cette hypothèse est confirmée d'une manière complète par les travaux d'Em.-Chr. Hansen, *Bot. Centralbl.*, 1885, etc., qui a montré que la « gomme de Levure » ne se colore pas par l'iode; et, d'autre part, Clautriau (voir plus loin) a extrait de la Levure une variété de glycogène. Note ajoutée en 1902.]

rotatoire et la composition centésimale, tels que Loew les indique, n'infirment pas cette conclusion. Loew donne pour formule à sa gomme de levure

$$C^{18}H^{34}O^{17} = 3\,(C^{6}H^{10}O^{5}) + 2\,H^{2}O.$$

On pourrait tout aussi bien scinder la formule de la façon suivante :

$$n\,(C^{18}H^{34}O^{17}) = n\,(C^{6}H^{10}O^{5}) + 2n\,(C^{6}H^{10}O^{5},\ H^{2}O).$$

Glycogène (renfermé dans le protoplasme). Matière gommeuse (dérivant de la membrane).

Connaissant le pouvoir rotatoire du glycogène (+ 211° suivant Külz, + 226°,7 suivant Boehm et Hoffmann[1]), on calcule que le pouvoir rotatoire d'un mélange tel que celui que je suppose serait d'environ + 65° à + 70°, si l'on admet que la matière gommeuse soit inactive ou peu active sur la lumière polarisée. Or, Loew a trouvé + 78°. Béchamp avait indiqué + 59° à + 61°. La divergence entre les chiffres de Béchamp et de Loew s'explique tout naturellement s'ils ont examiné des mélanges et non des substances pures.

J'ai traité à diverses reprises, sous le microscope, des cellules de levure par une solution assez concentrée d'iode dans l'iodure de potassium. La plupart d'entre elles deviennent alors jaune d'or, mais il y a quelques individus — peut-être 5 à 6 °/ₒ — qui prennent une coloration d'un rouge-brun acajou, comme le fait le glycogène. Les cellules des deux sortes ne présentent aucune autre différence; on observe du reste des transitions entre ces deux nuances extrêmes[2].

---

[1] KÜLZ, *Pflüger's Archiv*, Bd XXIV, 1881, p. 88; — BOEHM et HOFFMANN, *Arch. für exper. Pathol.*, Bd VII, p. 492.

[2] REGNAULT (*Cours élém. de chimie*, 6me éd., t. IV, 1869, p. 186) a déjà vu que, par l'effet de l'iode, l'enveloppe des cellules de levure « ne se colore pas, mais le liquide intérieur prend une couleur brune ». C'est tout ce qu'il dit de cette réaction.

J'ai fait plusieurs essais pour isoler le glycogène que je supposais exister dans la levure, mais je n'ai pas réussi à l'obtenir pur et inaltéré. J'ai toutefois extrait un corps très voisin du glycogène, comme on va le voir.

Environ 300 grammes de levure fraîche [1] ont été écrasés peu à peu dans un mortier avec de petites quantités d'éther, puis introduits dans un grand ballon avec 1500 centimètres cubes d'eau distillée et 250 centimètres cubes d'éther [2]. On secoue fortement et l'on acidifie par l'acide chlorhydrique, pour détruire les ferments diastatiques éventuels. J'ai laissé digérer à froid pendant dix-sept heures, après quoi j'ai neutralisé avec du carbonate de soude et chauffé au bain-marie environ trois heures, sans atteindre l'ébullition. Le liquide filtré est brunâtre et très opalescent. Une portion traitée d'après la méthode de Brücke ne m'ayant pas donné de bons résultats, j'ai essayé sur une autre portion de précipiter dès l'abord par deux volumes d'alcool absolu; le précipité obtenu, lavé à l'alcool avec un tiers d'eau et redissous dans l'eau, donne une solution à peine alcaline, qu'on chauffe presque à l'ébullition pour éliminer une partie des albuminoïdes et n'avoir pas à employer ensuite trop de réactif mercurique. On filtre; on précipite le reste des substances azotées par l'acide chlorhydriqne et l'iodure double de mercure et de potassium jusqu'à ce qu'un excès de ce réactif ne produise plus de trouble nouveau. La liqueur filtrée est alors additionnée de 2 $^1/_2$ volumes d'alcool absolu. Il se forme un précipité blanc, abondant, qu'on lave avec un mélange de 2 $^1/_2$ volumes d'alcool et 1 volume d'eau, et qu'on dissout dans l'eau. La solution, filtrée plusieurs fois, est très opalescente, presque laiteuse, faiblement acide.

---

[1] [Pour cette analyse, j'ai eu tort d'employer simplement de la levure de boulanger fraîche; cette levure est généralement épuisée et pauvre en glycogène. Il eût fallu prendre de la levure bien nourrie, dans un liquide en pleine fermentation, comme Clautriau l'a fait plus tard sur mon conseil. Note ajoutée en 1902.]

[2] L'éther sert à tuer la levure, comme Hoppe-Seyler (*Medic.-chem. Unters.*, p. 500) l'a conseillé.

1° Elle colore l'iode dans l'iodure de potassium d'une manière à peine sensible : le réactif iodé ne brunit pas, mais sa teinte jaune pâlit un peu moins qu'avec une égale quantité d'eau distillée.

2° L'opalescence disparaît par l'addition de soude caustique.

3° La solution, traitée par le réactif de Trommer, dissout en bleu l'hydrate cuivrique formé, mais ne le réduit pas à l'ébullition.

4° Après un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique étendu, l'opalescence a disparu, et la liqueur, qui dissout beaucoup d'hydrate cuivrique, donne à l'ébullition un beau précipité d'oxydule; elle présente les réactions de Moore et de Boettger, mais elle ne réduit pas l'acétate de cuivre acidulé par l'acide acétique (réactif de Barfoed [1]). — D'après cela, l'acide sulfurique a très probablement transformé notre substance en maltose (le pouvoir réducteur paraissant trop grand pour une dextrine).

5° Au contraire, la solution n'a pas acquis la propriété de réduire le réactif de Trommer par l'action de la salive prolongée, pendant dix-huit heures, à la température ordinaire. Le mélange de notre solution et de la salive saccharifie cependant, en peu d'instants, une solution de glycogène hépatique, ce qui prouve que le résultat négatif ne tenait ni à la salive employée ni à la présence de quelque corps qui aurait détruit l'efficacité du ferment salivaire.

D'après tous ces faits, la substance que j'ai extraite de la levure ressemble beaucoup au « *xanthoglycogène* » que Boehm et Hoffmann ont obtenu en traitant par du sang défibriné du glycogène hépatique dissous dans une solution de chlorure de sodium à $^3/_4$ °/₀ [2]. Comme le xanthoglycogène, notre substance se distingue du glycogène ordinaire par la faible coloration en jaune qu'elle

[1] Barfoed, *De organiske Stoffers qvalitative Analyse*. Kjöbenhavn, 1878, p. 223. — Musculus et von Mering (*Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. physiol. Chemie*, Bd II, p. 403) ont montré que la maltose n'agit pas sur le réactif de Barfoed.

[2] Boehm und Hoffmann, *Ueb. die Einwirkung von defibrinirtem Blute auf Glykogenlösungen*. (Arch. f. exp. Pathol., Bd X, 1879, p. 1) et *Beitr. z. Kenntniss d. Glykogens und seiner Derivate*. (Ibid., p. 12.)

prend par l'iode; et de l'*achrooglycogène* des deux auteurs que je viens de nommer, par la forte opalescence de ses solutions.

Rapprochée des observations microchimiques et des données de Nägeli et Loew, qui ont obtenu une substance brunissant par l'iode, notre analyse paraît établir que la levure renferme du glycogène typique, en quantité variable sans doute d'après l'état de nutrition des individus. Dans les opérations assez longues auxquelles j'ai dû soumettre ce glycogène, il se serait tranformé en un corps semblable au xanthoglycogène.

La difficulté de le saccharifier par la salive ne doit pas étonner outre mesure, puisque Kühne a déjà constaté que « l'on obtient parfois du glycogène qui se transforme immédiatement par l'ébullition avec les acides, mais ne donne du sucre qu'après plusieurs heures, sous l'action des ferments [1] ».

8. *Lemanea annulata* Kützg. — Cette Floridée d'eau douce ne renferme pas de grains d'amidon : Nägeli l'a déjà reconnu [2]; mais elle a, en abondance, un autre hydrate de carbone qui semble se rapprocher à la fois du glycogène et de l'amidon. Lorsque des fragments décolorés par un séjour dans l'alcool sont humectés d'iode dans l'iodure de potassium, le protoplasme très réfringent des spores devient d'un brun-rouge foncé qui peut aller jusqu'au noir. Tout le reste du tissu se colore aussi en brun, mais moins fortement. Cette coloration tient partout au contenu cellulaire; les membranes des cellules restent incolores. Le protoplasme des spores, traité par l'iode et écrasé dans l'eau du porte-objet, apparaît formé de granules bruns qui ne se dissolvent ni ne se décolorent sensiblement; j'aurai à revenir au § IX sur cette particularité. Dans quelques cas, la coloration par l'iode est plus violacée ou rougeâtre; jamais bleue [3].

---

[1] Kühne, *Lehrb. d. physiol. Chemie*, 1868, p. 63.
[2] Nägeli, *Die Stärkekörner*, 1858, p. 532.
[3] [Voir, plus loin, au sujet de ces grains, ma Note : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux*, 1902.]

Je me suis assuré, par l'examen au spectroscope, que l'extrait alcoolique de *Lemanea* offre les bandes d'absorption caractéristiques de la chlorophylle [1].

Pour l'extraction du corps analogue au glycogène, douze touffes sporifères, conservées dans l'alcool, ont été finement découpées et écrasées dans un mortier. On fait bouillir la masse, pendant une dizaines de minutes, avec de l'eau et l'on filtre. Une petite portion de liquide a été additionnée d'acide chlorhydrique et d'iodure double de mercure et de potassium : il ne se forme aucun précipité. Le traitement au mercure est donc ici superflu. On concentre le reste de la solution (qui est à peine acide) au bain-marie, on filtre et l'on ajoute 2 volumes d'alcool absolu. Il se dépose, par le repos, un léger précipité grumeleux, d'un blanc à peine jaunâtre; on filtre (D). On lave le précipité à l'alcool et on le dissout dans l'eau. Cette solution est jaunâtre, opalescente, neutre; elle brunit l'iode dans l'iodure de potassium; perd, en grande partie, son opalescence par l'addition de soude caustique; dissout en bleu pâle de l'hydrate cuivrique, sans le réduire à l'ébullition; et acquiert, après un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique dilué, la propriété de réduire abondamment les réactifs de Trommer et de Boettger, en même temps que l'opalescence a disparu.

Le *Lemanea* renferme donc une sorte de glycogène; il est probable qu'il en est de même du *Batrachospermum* et de beaucoup d'autres Floridées.

La liqueur alcoolique D qui filtre après dépôt du corps analogue au glycogène, se trouble encore un peu par un grand excès d'alcool; mais la substance qui constitue le précipité n'appartient pas au groupe des dextrines.

Comme j'avais obtenu fort peu du corps analogue au glycogène et que les fragments de *Lemanea* qui avaient servi à cette analyse

---

[1] NEBELUNG (*Bot. Zeit.*, 1878, col. 397-399) a déjà signalé chez le *Lemanea* une matière colorante verte, soluble dans l'alcool et extrêmement analogue à la chlorophylle. Voir aussi PRINGSHEIM, *Ueber natürl. Chlorophyllmodificationen und die Farbstoffe der Florideen.* (MONATSB. BERL. AKAD., Dezemb. 1875, p. 752.)

renfermaient encore beaucoup de substance brunissant par l'iode, je les ai épuisés de nouveau, cette fois avec une solution étendue et tiède de soude caustique. Le rendement a été bien plus considérable, seulement le corps glycogénique avait subi par là de légères altérations dans ses propriétés: il faut surtout noter que sa solution, même assez concentrée, était à peine opalescente et qu'elle se colorait en violet rougeâtre pâle par l'addition de très peu d'iode dans l'iodure de potassium [1]. D'ailleurs, elle prenait, par un peu plus d'iode, la même nuance brune que le glycogène hépatique; n'opérait pas une trace de réduction sur le réactif de Trommer, mais le réduisait abondamment après un quart d'heure d'ébullition avec de l'acide sulfurique faible.

On voit que la soude caustique transforme le corps glycogénique de *Lemanea* en une substance très analogue à la *glycogène-dextrine* de Kühne, dont il a déjà été question à propos de la Pezize. Von Vintschgau et Dietl ont constaté [2] la naissance d'un corps semblable par l'action de la potasse caustique sur le glycogène du foie.

9. *Linum usitatissimum* L. — L'examen microchimique de la graine mûre révèle dans les cellules des cotylédons l'absence d'amidon, beaucoup d'huile noircissant par l'acide osmique et prenant par l'iode dans l'iodure de potassium des nuances variées, du jaune à peine sensible au brun; et, en outre, des granules protéiques, auxquels la solution iodée communique une teinte brun doré. L'iode colore en bleu pâle les membranes cellulaires du tissu des cotylédons, réaction semblable à celle de l'isolichénine [3]. — Le contenu de quelques assises de cellules brunit uniformément par l'iode et renferme peut-être du glycogène. Dans les premiers jours de la germination, cette coloration brune par l'iode devient plus nette près du point végétatif, dans les plus jeunes feuilles, dans les couches sous-épidermiques de l'hypocotyle, dans les cotylédons.

---

[1] Cf. infra, § IX.

[2] v. Vintschgau und Dietl, *Pflüger's Archiv*, Bd XVII, 1878, p. 154.

[3] Cf. supra, p. 16, note.

Les tissus un peu plus âgés se teignent au contraire en jaune. La coloration brune pâlit quand on chauffe la préparation, mais réapparait à peine par le refroidissement. La tige présente un peu d'amidon. Je suis porté à voir une sorte de glycogène dans la substance qui imbibe le protoplasme et brunit par l'iode. Ce qui est certain, c'est que les jeunes plantes de Lin contiennent, là ou ailleurs, une sorte de glycogène; bien que l'extraction en soit difficile et le rendement minime, son existence ne paraît pas douteuse après l'analyse suivante :

J'ai fait germer du Lin et l'ai récolté au bout de dix à douze jours. Les plantes dépassaient la terre de 2 à 4 centimètres; elles n'avaient encore développé que leurs deux cotylédons verts. Elles sont arrachées avec leurs racines et soigneusement débarrassées de la terre *et des restes d'enveloppes séminales*. Non desséchées, elles pèsent 185 grammes.

On les découpe, on les pile dans un mortier de marbre, on ajoute *à froid* (pour ne pas dissoudre d'amidon) environ 350 centimètres cubes d'eau distillée, on passe à travers un linge et l'on filtre. La liqueur est additionnée de 2 volumes d'alcool absolu. Le précipité brun qui se forme est dissous dans l'eau fortement acidulée par l'acide chlorhydrique pour détruire la diastase. Cette solution filtrée, traitée par l'iodure double de mercure et de potassium et filtrée de nouveau, reçoit deux volumes d'alcool absolu : il se produit un léger précipité blanchâtre qu'on laisse déposer. On le recueille sur un filtre, on le lave à l'alcool, puis on le détache du filtre pour le dissoudre dans l'eau distillée. On obtient ainsi une solution (E) à peine acide, un peu jaunâtre et opalescente.

1° Elle colore faiblement l'iode en brun. Pour rendre la coloration plus évidente, il suffit de conserver pendant quelques jours deux tubes à essais contenant la même quantité de la même solution iodée, l'un avec quelques gouttes du liquide E, l'autre avec tout autant d'eau distillée : on voit la différence de coloration s'accentuer de plus en plus, parce que l'iode est retenu par le corps glycogénique.

2° L'opalescence disparaît par la soude caustique.

3° Par le réactif de Trommer, on constate une légère dissolution

bleue d'hydrate cuivrique, sans aucune formation d'oxydule à l'ébullition.

4° Après que la solution E a été bouillie un quart d'heure avec de l'acide sulfurique dilué, elle donne, par le réactif de Trommer, un beau précipité rouge d'oxydule.

10. *Mahonia repens* G. Don. — Tous les tissus jeunes des bourgeons foliaires et floraux prennent par l'iode, dans l'iodure de potassium, une nuance brun acajou des plus intenses. La matière colorable paraît à la fois imbiber le protoplasme et être dissoute dans le suc cellulaire. La teinte brune diminue par la chaleur, sans toutefois reparaître par le refroidissement. Les cellules contiennent aussi un peu d'amidon, en petits grains, et des granules (protéiques?) irrégulièrement arrondis, que l'iode colore en rouge cuivré.

J'ai soumis à l'analyse 60 grammes de jeunes bourgeons; je n'ai pris que les portions tout à fait tendres, non lignifiées. Ces bourgeons sont écrasés dans un mortier de marbre et traités par trois fois leur poids d'eau *froide;* la masse est passée à travers un linge et filtrée. On obtient un liquide brun, acide, très opalescent, qu'on précipite par 2 volumes d'alcool absolu. Le précipité, lavé à l'alcool, détaché du filtre et dissous dans l'eau tiède, fournit une solution à peine acide qui n'a plus d'opalescence sensible. On ajoute de l'acide chlorhydrique et de l'iodure double de mercure et de potassium jusqu'à précipitation complète, on filtre et on traite la liqueur filtrée par 2 $^1/_2$ volumes d'alcool absolu. Il ne se produit qu'un léger trouble; on recueille, on lave à l'alcool et l'on dissout dans l'eau tiède. La solution ainsi obtenue est neutre, à peine jaunâtre, non opalescente. Elle brunit nettement l'iode dans l'iodure de potassium; dissout en bleu un peu d'hydrate cuivrique qu'elle ne réduit pas à l'ébullition et donne, après un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique étendu, un précipité d'oxydule de cuivre par le réactif de Trommer.

Le *Mahonia* renferme donc aussi un corps très voisin du glycogène; la non-réduction du réactif de Trommer l'éloigne des dextrines et amylodextrines ordinaires, dérivées de l'amidon; le

brunissement par l'iode parle contre l'inuline. Les réactions que je viens d'énumérer concordent au contraire absolument avec la glycogène-dextrine de Kühne, dont il a déjà été plusieurs fois question. On peut se demander si les pousses de *Mahonia* contiennent une sorte de glycogène qui se serait légèrement modifié dans le courant des opérations analytiques, ou si elles renferment de la glycogène-dextrine. Comme celle-ci représente sans doute une des étapes que le glycogène parcourt dans la plante, il est possible que le *Mahonia* renferme à la fois des substances analogues à ces deux corps si voisins.

11. *Solanum tuberosum* L. — Les couches cellulaires subépidermiques des tubercules de pomme de terre ne contiennent pas de grains d'amidon, mais un liquide qui se colore en jaune-brun par l'iode [1].

Pour y rechercher les hydrates de carbone solubles, j'ai découpé finement 250 grammes de pelures (= épiderme et quelques assises sous-jacentes) de pommes de terre non germées, j'ai trituré dans un mortier de marbre et additionné d'eau *froide*. Le liquide filtré, brun, légèrement acide, est neutralisé avec du carbonate d'ammoniaque, puis concentré au bain-marie et refiltré. J'ai ajouté un lait de chaux et j'ai précipité ensuite par un courant d'acide carbonique et quelques gouttes d'acide sulfurique, dans l'espoir d'éclaircir la liqueur, mais elle est restée brune. Elle est ensuite exactement neutralisée par l'acide sulfurique, concentrée encore au bain-marie, filtrée, précipitée avec de l'acide chlorhydrique et de l'iodure double de mercure et de potassium, jusqu'à ce qu'un excès de ce réactif ne la trouble plus, refiltrée, additionnée de 2 volumes d'alcool absolu et filtrée de nouveau. On obtient ainsi une

[1] [Cette teinte ne pâlit pas à chaud et ne revient pas par le refroidissement. Il a été établi ultérieurement qu'elle est due à la solanine (et à la solanidine). Voir MOLLE, *Rech. de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées,* MÉM. COUR. IN-8° AC. ROY. BELG., t. LIII, 1895, et RECUEIL INST. BOT. BRUXELLES, t. II. Note ajoutée en 1902.]

liqueur limpide, jaune, acide (F) et, sur le filtre, un précipité blanc, caséeux, qu'on lave à l'alcool.

Le précipité charbonne fortement et laisse à peine des cendres. Il n'adhère pas aux vases comme font d'ordinaire les dextrines. Dissous dans l'eau, il donne une liqueur limpide, avec un léger ton jaunâtre, sans opalescence, neutre. Cette liqueur ne colore pas l'iode; elle dissout en bleu pâle l'hydrate cuivrique du réactif de Trommer, sans le réduire à l'ébullition, mais réduit ce même réactif et celui de Boettger après qu'on l'a bouillie un quart d'heure avec de l'acide sulfurique très dilué. La pomme de terre renferme donc un corps que l'on peut indifféremment regarder comme un achrooglycogène (Boehm et Hoffmann) non opalescent ou comme une achroodextrine (Brücke) non réductrice, non visqueuse et peu soluble dans l'alcool.

La liqueur F contient encore une substance analogue aux dextrines. Concentrée au bain-marie, sans atteindre l'ébullition, et additionnée d'un grand excès d'alcool, elle laisse déposer un précipité blanchâtre, visqueux, qui adhère bientôt au vase. On filtre, on lave le précipité à l'alcool et on le dissout dans l'eau; il fournit une solution limpide, un peu brunâtre, qui ne colore pas l'iode, devient d'un beau bleu verdâtre avec le réactif de Trommer et précipite une trace d'oxydule à l'ébullition; après un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique très faible, la liqueur réduit abondamment ce même réactif et modérément celui de Boettger.

Le tableau suivant résume les analyses. Lorsqu'il n'y a pas d'indication dans une colonne, c'est que la substance correspondante n'a pas été recherchée; le signe ± indique un corps voisin de celui qui est inscrit après ce signe. Pour le détail, je prie de recourir au texte.

NOM DU VÉGÉTAL.	CORPS du GROUPE DU GLYCOGÈNE.	CORPS ANALOGUES aux dextrines réduisant le réactif de Trommer.	GRAINS d'amidon.	CHLOROPHYLLE.
1. *Peziza vesiculosa* Bull.	Glycogène.	Non.	Non.	Non.
2. *Tuber melanosporum* Vitt.	Glycogène.	—	Non.	Non.
3. *Tuber æstivum* Vitt. .	Glycogène.	Oui.	Non.	Non.
4. *Aethalium septicum* Fr.	Glycogène.	—	Non.	Non.
5. *Agaricus campestris* L.	± Glycogène?	Oui.	Non.	Non.
6. *Pilobolus cristallinus* Tode.	Glycogène.	—	Non.	Non.
7. *Saccharomyces Cerevisiæ* Meyen	Glycogène ou ± Xanthoglycogène.	—	Non.	Non.
8. *Lemanea annulata* Kützg.	± Glycogène.	Non.	Non.	Oui.
9. *Linum usitatissimum* L.	± Glycogène.	—	Oui.	Oui.
10. *Mahonia repens* G. Don.	± Glycogène-dextrine.	—	Oui.	Oui.
11. *Solanum tuberosum* L.	± Achrooglycogène.	Oui.	Oui.	Oui.

VI

RECHERCHE MICROCHIMIQUE DU GLYCOGÈNE.

Külz a beaucoup insisté sur les incertitudes de la recherche microchimique du glycogène [1]; on ne saurait lui donner tout à fait tort. Cependant, lorsque le glycogène se trouve en grande quantité dans un tissu, j'estime qu'on peut le caractériser sous le micro-

[1] Külz, *Pflüger's Archiv*, Bd XXIV, 1881, p. 63.

scope, au moins aussi bien que l'inuline ou l'asparagine : c'est ce qui arrive, par exemple, pour l'épiplasme des Ascomycètes, pour le *Pilobolus*, pour beaucoup d'Infusoires, pour certains organes des Mammifères [1]. Mais, s'il est peu abondant, on n'aura ainsi que des probabilités et non des certitudes. Il faut alors recourir à l'extraction en grand, qui, elle-même, n'est pas exempte de difficultés. Ces difficultés, on l'a vu, sont plus sérieuses encore dans le règne végétal que dans le règne animal, à cause des autres hydrates de carbone — cellulose, amidon et leurs dérivés — si répandus chez les plantes. D'autre part, l'analyse en grand n'est guère praticable lorsqu'il s'agit d'organismes microscopiques; elle est trompeuse pour beaucoup de plantes aquatiques qu'on ne parvient jamais à débarrasser complètement des Infusoires et des Rotifères qui les habitent. Dans des cas semblables, l'emploi de réactions microchimiques reste la seule ressource, de même qu'elles peuvent seules nous renseigner sur le mode de distribution du glycogène au sein des tissus.

Le glycogène se présente dans les cellules comme une matière amorphe, hyaline, réfringente, de consistance demi-fluide, imprégnant d'une manière diffuse tout le protoplasme (tissu de *Peziza vesiculosa*; cellules du foie, d'après Bock et Hoffmann), ou accumulée irrégulièrement par places (*Pilobolus*), parfois en gouttelettes (épithéliums d'après Cl. Bernard, Schiele, etc.), en masses dont la coupe optique est semi-lunaire (placenta, d'après Godet; muqueuse vaginale, d'après Schiele) ou, enfin, en amas considérables qui peuvent soit remplir toute une partie de la cellule (asques de

[1] Sur la recherche microchimique du glycogène dans le règne animal, on peut consulter : Cl. Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie*, t. I p. 233 [et surtout les figures, pp. 234-235]; t. II, p. 91 et passim; — Ranvier, *Traité techn. d'histologie*, p. 158 et passim; — Certes, *Sur la glycogenèse chez les Infusoires*. (Comptes rendus, 12 janvier 1880, p. 77); — Schiele, *Das Glycogen in normalen und pathologischen Epithelien*. (Inaug.-Diss. Bern, 1880); — Godet, *Recherches sur la structure intime du placenta du Lapin*. (Diss. inaug., Berne, 1877); — Bock und Hoffmann, *Ueber d. mikrochem. Verhalten der Leberzellen*. (Virchow's Archiv, Bd LVI, p. 201.)

Peziza, etc.), soit constituer une sphère creuse autour du protoplasme (asques de *Tuber*). Jamais, pour autant qu'on sache jusqu'ici, il ne forme de grains solides, organisés, à la façon de l'amidon.

Les amas glycogéniques, quoique très réfringents, le sont un peu moins que les gouttelettes graisseuses; et, comme le dit Schiele, ils s'en distinguent « par leurs contours moins foncés, leur reflet plus mat et leur consistance plus visqueuse[1] ». Extraits des tissus frais et mis au contact de l'eau, ils se dissolvent assez vite (en quelques minutes) et laissent souvent un peu de résidu granuleux : probablement un squelette albuminoïde. Au contraire, dans les tissus durcis à l'alcool ou traités à l'acide acétique cristallisable, ils se coagulent[2] et leur dissolution dans l'eau devient très difficile : c'est à cela, sans doute, qu'il faut attribuer l'extrême lenteur avec laquelle Schiele a vu se dissoudre le glycogène.

Les caractères microchimiques négatifs du glycogène sont l'insolubilité dans l'alcool et l'éther et l'absence de coloration avec l'acide osmique, le réactif de Millon et les sels de fer : ils permettent de distinguer cette substance des graisses, des albuminoïdes et des tannins. Son caractère positif le plus important nous est fourni par l'iode.

On attribue en général à des substances protéiques les colorations brunes que les cellules[3] prennent souvent au contact d'une solution aqueuse *moyennement concentrée* d'iode dans l'iodure de potassium. Autant que j'en puis juger, c'est là une erreur : les matières protéiques deviennent jaunes par l'iode (jaune citrin, jaune soufre, jaune d'or, jaune d'ambre, orangé), mais non franchement brunes[4]. Il est facile de s'en assurer sur une solution de blanc

---

[1] Schiele, *loc. cit.*, p. 8.

[2] Cf. Cl. Bernard, *loc. cit.*, t. II, p. 91.

[3] Ici et dans tout ce qui suit, je n'ai en vue que le *contenu cellulaire;* je laisse, à dessein, de côté les membranes, dont les colorations brunes par l'iode ne me paraissent pas devoir se rapporter au glycogène.

[4] Hartig me semble avoir vu très juste quand il dit (*Entwicklungsgesch. des Pflanzenkeims*, 1858, p. 154) : « Die braune Farbe, welche Jodlösung dem [Pro-

d'œuf et sur un très grand nombre de protoplasmes animaux et végétaux. — Les noyaux se colorent en jaune d'or intense, parfois plus ou moins brunâtre; mais, ici encore, ce n'est pas un brun franc. Il en est de même de beaucoup de « grains protéiques » (*Ricinus, Linum*), ce qui est dû peut-être à de la nucléine, car Hoppe-Seyler a trouvé cette substance dans les cristalloïdes vitellins (« Dotterplättchen ») des animaux, si analogues aux cristalloïdes des grains protéiques des plantes.

Ces colorations jaunes ne diminuent point par une douce chaleur (blanc d'œuf, protoplasmes [noyaux, cals des plaques criblées], cristalloïdes). Le contraire a lieu pour la couleur brune du glycogène traité par l'iode : elle pâlit beaucoup quand on chauffe la préparation. S'il y a de très faibles quantités de glycogène, la nuance paraît ne plus se foncer par le refroidissement (*Linum?*); mais si le glycogène est quelque peu abondant, on voit clairement reparaître la couleur primitive. Cette réaction s'obtient le mieux de la façon suivante : On emploie des tissus frais ou conservés dans l'alcool; ceux-ci sont souvent préférables, parce qu'ils sont débarrassés de la chlorophylle et de quelques autres matières colorantes. On place la coupe à examiner dans une goutte d'eau, sur le porte-objet, on ajoute un peu d'une solution médiocrement concentrée d'iode dans l'iodure de potassium [1], on laisse

toplasma-] Schlauche ertheilt, gehört nicht diesem, sondern ihm adhärirende Substanzen an ». — Mais, plus tard, cela a été perdu de vue et l'on a généralement admis que les albuminoïdes peuvent se colorer en brun aussi bien qu'en jaune par l'iode.

[1] Si le tissu était très alcalin, — ce qui est rare chez les plantes, — il faudrait aciduler la solution iodée, puisque les alcalis la décolorent. — Quelques auteurs conseillent de faire tous les essais sur les hydrates de carbone avec des cristaux d'iode et non avec des dissolutions; mais je n'ai pas trouvé, dans le cas du glycogène, d'avantage bien marqué à ce mode de procéder. — Dans quelques cas où l'observation est très difficile, il pourra être utile de recourir à la marche assez compliquée que Cl. Bernard (*Phénomènes de la vie*, t. II, p. 91) recommande pour les tissus animaux : Déshydrater les coupes par l'alcool absolu additionné d'un fragment de potasse caustique ou de quelques gouttes d'acide; laver ensuite à

agir quelques instants et l'on dilue le liquide iodé du porte-objet avec de l'eau. On constate à un faible grossissement si le contenu cellulaire s'est coloré en brun (brun, rouge-brun, brun acajou); dans l'affirmative, on chauffe doucement, sans jamais atteindre l'ébullition et on regarde si la couleur pâlit. Puis, on arrose le porte-objet par-dessous, au moyen d'une pissette, pour le refroidir vite et complètement, et l'on observe au microscope si la couleur est redevenue foncée. Quand l'objet à étudier est assez grand, il est plus simple de comparer les nuances à l'œil nu, en posant la préparation sur un papier blanc : on évite ainsi la buée qui obscurcit le champ microscopique autour de l'objet chauffé.

Je ne vois guère que l'amylodextrine avec laquelle une confusion soit encore possible, à la rigueur, après que la réaction que je viens de décrire a donné un résultat bien net. Mais l'amylodextrine (qui, du reste, ne paraît pas s'accumuler dans les plantes) ne forme point, comme le glycogène, des masses réfringentes, demi-fluides.

S'il est permis de tenir pour du glycogène une substance qui a tous les caractères optiques, physiques et chimiques que je viens de rapporter, il ne suffit pas, en revanche, que l'une ou l'autre des réactions ne se produise pas pour qu'on soit sûr qu'un tissu ne renferme pas de petites quantités de glycogène. Dans les tissus compacts, la couleur brune disparaît difficilement à chaud et réapparaît plus difficilement encore par le refroidissement.

C'est un fait extrêmement fréquent que de rencontrer des cellules végétales qui prennent par l'iode une coloration brune marquée. Comme je l'ai dit, cette réaction ne semble pas pouvoir se rapporter aux albuminoïdes, — ce qui ne veut pas dire qu'elle doive indiquer toujours un corps voisin du glycogène. Mais, à titre de renseignement pour des recherches ultérieures, il peut être utile

l'éther, au chloroforme ou au sulfure de carbone pour durcir et enlever les matières grasses; puis baigner dans l'alcool iodé, ou le chloroforme, ou le sulfure de carbone ou l'éther iodés; — laver dans l'essence de térébenthine et conserver la préparation dans du vernis à l'essence, sans clore complètement : « à l'abri de l'air elle se décolorerait rapidement ».

de faire l'énumération rapide de quelques plantes dans lesquelles cette réaction a été constatée par d'autres ou par moi-même. Cet aperçu fait l'objet du prochain paragraphe; il n'est pas besoin de dire que je n'ai pas cherché à donner une liste même à peu près complète.

J'ajoute, une fois pour toutes, que dans mes observations j'ai fait usage d'une solution assez concentrée d'iode dans l'iodure de potassium. La teinture d'iode donne de moins bons résultats.

VII

RÉACTIONS DE L'IODE SUR QUELQUES PLANTES.

Myxomycètes. — Sur l'*Aethalium,* voir plus haut (p. 21).

Champignons. — Comme on l'a vu, beaucoup d'Ascomycètes, le *Pilobolus* et probablement d'autres Mucorinées contiennent du glycogène La Levure de bière nous présente tout au moins un corps très voisin. L'extrait aqueux d'*Agaricus campestris* L. renferme une sorte de dextrine; la présence du glycogène y est douteuse [1]. — Ludwig et Busse [2] ont décrit, sous les noms de *mycodextrine* et *mycoïnuline,* deux hydrates de carbone dextrogyres, qu'ils ont extraits de l'*Elaphomyces granulatus* N. ab E., et qui restent encore à étudier de plus près. Les solutions de mycoïnuline seraient opalescentes à froid, mais non à chaud; elles ne coloreraient pas l'iode.

Peronospora Alsinearum Casp. — La membrane des fils conidiophores devient d'un rose brunâtre par l'iode. Le contenu des conidies prend une teinte qui varie du jaune au brun-rouge; la substance qui se colore ainsi se dissout, par expression, dans l'eau du porte-objet. Sous l'action de l'iode, le contenu des oogones, d'abord finement granuleux, se colore, d'une manière uniforme, en jaune rougeâtre pâle. Lorsqu'il s'est différencié en deux parties, le protoplasme central

1 [Voir toutefois plus haut, p. 22, note 1.]
2 *Arch. f. Pharm.*, Bd 189, p. 24.

granuleux aussi bien que le *périplasme*[1] réfringent deviennent d'un jaune-brun rougeâtre; la substance colorable en brun existe à l'état d'imbibition; elle est soluble dans l'eau. Sa nuance pâlit lorsqu'on chauffe, sans revenir d'une manière sensible par le refroidissement. C'est peut-être du glycogène; mais il est facile de voir, par le réactif de Millon, que le protoplasme et le périplasme sont essentiellement formés de matières albuminoïdes [2]. J'ajouterai que le chlorure de zinc iodé colore la membrane des fils mycéliens en violet sale et la membrane de l'oogone en rouge-brun [3].

Achlya racemosa Hild. — Les filaments à contenu abondant et dense, les oogones jeunes et surtout les zoospores prennent une belle coloration brun acajou par une solution d'iode dans l'iodure de potassium, pas trop diluée, — tout comme le font les Infusoires qui nagent parmi eux. La couleur brune de l'*Achlya* est répandue uniformément par tout le protoplasme et non pas liée à des granules spéciaux. Quand on écrase les filaments, on voit la substance colorée en brun se dissoudre bientôt dans l'eau et laisser un squelette de protoplasme jaune. Les filaments pauvres en contenu ne présentent que la réaction jaune du protoplasme. Il est donc possible que l'*Achlya* contienne du glycogène; mais il y en a trop peu pour que l'action de la chaleur donne des résultats bien nets [4].

Les membranes cellulaires des filaments se colorent en rose pâle par l'iode.

Phycomyces nitens Knze. — Les spores, très réfringentes, deviennent jaunes par l'iode et légèrement brunes par l'acide osmique. Leur contenu ne se dissout pas sensiblement dans l'eau. Elles paraissent donc renfermer de l'huile finement divisée, mais pas de glycogène. Il semble que, de même que beaucoup d'autres spores de Champignons (*Penicillium glaucum,* plusieurs Ascomycètes, etc.), elles doivent contenir, en mélange avec les albuminoïdes, une substance particulière qui leur donne leur aspect homogène et réfringent, qui n'est ni de l'huile ni du glycogène, et qui resterait à étudier [5].

Penicillium glaucum Lk. — Tout le mycélium se colore faiblement en brun rougeâtre par l'iode, surtout les articles basilaires des chapelets de conidies [6]. Celles-ci, quoique très réfringentes, ne se colorent pas plus fort que le reste du Champignon et deviennent grisâtres par l'acide osmique. (Cf. *Phycomyces nitens.*)

---

[1] de Bary, *Beitr. z. Morph. u. Phys. der Pilze.* 4te Reihe, 1881, p. 16

[2] Cf. de Bary, *Bot. Zeit.*, 1861, p. 90.

[3] [Sur la réaction du glycogène chez diverses Péronosporacées, voir plus loin : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux,* 1902.]

[4] [Au sujet des réactions des Saprolegniacées, voir également la note imprimée plus loin : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux.* 1902.]

[5] [Ultérieurement, j'ai pu démontrer l'existence de glycogène chez *Phycomyces* et même l'en extraire. Voir plus loin : *Sur le glycogène chez les Mucorinées,* 1882.]

[6] [Ultérieurement, j'ai pu m'assurer que le *Penicillium* contient, en effet, du glycogène. Voir plus loin : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux,* 1902.]

Haplotrichum roseum Corda. — Les filaments fructifères et les spores deviennent bruns par l'iode et, plus tard, violets.

Hypochnus centrifugus Tul. — Tout le tissu des sclérotes se colore en brun pourpré par l'iode. (Cette observation et la précédente m'ont été communiquées par M. Fayod.)

Algues vertes et brunes. — Hugo Mohl [1] a vu parfois chez le *Zygnema* (et aussi chez la pomme de terre et d'autres Phanérogames) le suc de quelques cellules se colorer en rouge vineux par l'iode, mais Nägeli paraît tenté de voir là un phénomène morbide. — Nägeli a trouvé [2] que les Chroococcacées, les Nostochacées (et Oscillariées), les Diatomées, la plupart des Fucacées, le *Chroolepus*, ne renferment pas d'amidon. Il est fort possible qu'il y existe du glycogène : j'ai vu toutes les cellules d'une Oscillaire se colorer uniformément en brun acajou par l'iode [3]. En revanche, le contenu de plusieurs Diatomées ne m'a offert qu'une réaction jaune, protoplasmique.

On sait que, d'après Walz [4], les *Vaucheria* (excepté *V. tuberosa* et *V. sericea*) sont privés d'amidon et sont riches en huile. Malgré les intéressantes expériences de Borodine [5], il est assez peu vraisemblable que cette huile soit le premier produit de l'assimilation chlorophyllienne [6] : l'amidon, le glycogène et le sucre méritent donc d'être encore recherchés avec soin chez ces Algues.

Dans un *Cladophora* qui avait beaucoup d'amidon, je n'ai constaté, au moyen de l'iode, de réaction brune bien accusée qu'à l'extrémité de la cellule terminale : le protoplasme y devient d'un jaune plus brunâtre qu'ailleurs. — Chez *Oedogonium* (décoloré par l'alcool) et *Spirogyra* (sp. aff. *Spir. orthospiræ*), je n'ai pas observé de réaction brune marquée. En revanche, j'ai souvent vu chez cette dernière espèce de petits granules, qui se colorent en rose par l'iode. Cette couleur, très pâle, ne se voit bien que lorsque les granules sont réunis en grand nombre. Ils sont animés d'un fourmillement très vif. Ils se trouvent dans la cavité cellulaire ou entre l'utricule primordial et la paroi de la cellule : ce dernier fait, assez remarquable, peut se constater avec certitude. Pendant la division de la cellule, ils s'accumulent près de la nouvelle cloison et servent à sa

---

1 Mohl, *Veget. Zelle*, p. 48 (cité par Nägeli, *Stärkekörner*, p. 381).

2 Nägeli, *Die Stärkekörner*, 1858, pp. 378, 531 sqq.

3 [Sur les Schizophycées et les Phéophycées, voir plus loin : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux*, 1902.]

4 Walz, *Beitr. z. Morphol. und Systematik d. Gattung Vaucheria*, in *Pringsheim's Jahrb.*, Bd V, 1866-1867, p. 129.

5 Borodin, *Bot. Zeit.*, 1878.

6 [Klebs (*Die Bedingungen der Fortpflanzung*, etc., 1896, p. 38) est aussi d'avis que l'huile n'est pas ici le produit direct de l'assimilation chlorophyllienne, mais une étape ultérieure du métabolisme. Note ajoutée en 1902.]

formation. Ils existent surtout dans les cellules vigoureuses, riches en amidon (« Amylonkerne »), et manquent lorsque la nutrition languit. Strasburger, qui a observé ces granules [1], les tient pour de l'amidon. Mais, dans les cas assez nombreux que j'ai eus sous les yeux, leur réaction rose pâle prouve qu'ils n'étaient point formés d'amidon ordinaire. Nous avons là sans doute quelque hydrate de carbone très voisin et, *à certains égards*, intermédiaire entre l'amidon et la cellulose, car la même réaction rose s'obtient avec les membranes de Spirogyre qui commencent à se décomposer et parfois aussi avec les membranes d'*Oedogonium*. Les membranes des Champignons la présentent souvent.

FLORIDÉES [2]. — Nägeli [3] n'a trouvé d'amidon, ni chez les *Bangia*, ni chez les *Porphyra*, ni chez les Batrachospermées, ni chez les Lémanéacées ; il n'en a pas vu davantage, avec certitude, chez les Floridées proprement dites. En revanche, il y a observé chez beaucoup d'espèces (*Callithamnion, Nitophyllum, Polysiphonia, Cystoclonium ; — Furcellaria, Callophyllis, Rhytiphlœa, Delesseria ;* etc.), par l'action de l'iode, des colorations d'abord rougeâtres, puis brunes, parfois violacées, comme Kützing l'avait vu déjà ; parfois presque noires. Nous avons indiqué plus haut chez le *Lemanea* des phénomènes tout semblables ; et, de même que le *Lemanea*, on peut s'attendre à ce que la plupart des Floridées, sinon toutes, contiennent un hydrate de carbone que quelques-unes de ses propriétés rapprochent de l'amidon et d'autres du glycogène. Ce que Nägeli dit du *Nitophyllum ocellatum* Grev., par exemple, a tout l'air de se rapporter à un amas périphérique d'une sorte de glycogène, analogue à l'épiplasme des Ascomycètes : « les cellules végétatives, décolorées par l'alcool, deviennent d'abord rouge vineux, puis jaune-brun ou brunes par l'iode. La coloration ne tient ni à la membrane ni au liquide cellulaire, mais bien à une substance homogène, qui revêt la membrane intérieurement et forme une couche plus ou moins épaisse, manquant par places ». Parmi les granules qu'on peut dégager des cellules du *Cystoclonium purpurascens* Kützg en les écrasant, il y en a, d'après Nägeli, qui restent incolores, d'autres qui deviennent jaunes, ou bruns ou violets par l'iode. Nägeli y soupçonne, sans motifs suffisants, des grains protoplasmiques mélangés d'amidon. (D'après les données de Kützing, il en serait de même des granules de plusieurs *Caulerpa ;* mais Nägeli a contesté ces observations, et la question devrait être examinée à nouveau [4].)

---

[1] STRASBURGER, *Zellbildung u. Zelltheilung*, 3[te] Aufl., 1880, p. 179. — Nägeli avait déjà vu ces granules accumulés le long des parois transverses de *Spirogyra ;* mais il ne parle pas de leurs réactions microchimiques (*Pflanzenphysiol. Unters.*, Heft I, 1855, pp. 44-45, et pl. III, fig. 6-12).

[2] [Sur les Floridées, voir plus loin : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux*, 1902.]

[3] *Stärkekörner*, pp. 532-533.

[4] KÜTZING, *Grundz. d. philos. Bot.*, I, 193 ; — NÄGELI, *Stärkekörner*, p. 193.

En 1865, Van Tieghem réétudia avec soin ces « globules amylacés », des Floridées et des Corallinées et reconnut [1] qu'ils « présentent tous les caractères de l'amidon dans leur forme, leur structure, leurs propriétés optiques [croix à la lumière polarisée], l'action qu'exercent sur eux l'eau chaude, les acides et les alcalis; mais ils diffèrent des grains amylacés tels qu'on les définit, par leur coloration en rouge par l'iode ». — L'iode, en effet, les colore, d'après lui, en *jaune rougeâtre* ou *acajou clair;* mais si l'on soumet ces grains rougis à des dessiccations et à des humectations alternatives avec de la teinture d'iode et de l'eau, ou si l'on ajoute une goutte d'acide sulfurique ou d'acide chlorhydrique, ou même si l'on chauffe simplement vers 70°, ils s'altèrent et deviennent violets ou bleus. Aussi, Van Tieghem y voit-il « un principe très voisin de l'amidon ordinaire, mais qui ne lui paraît pas être identique ». D'après Rosanoff [2], « la matière amylacée des Floridées ne présente pas dans toutes les espèces la même intensité de réaction; ainsi, par exemple, dans le *Rhytiphlœa pinastroides,* elle se colore, par l'eau iodée, en acajou; dans le *Bornetia,* la coloration est plus violâtre; enfin, dans le *Delesseria sanguinea,* dit Rosanoff, j'ai vu des granules qui se coloraient immédiatement en bleu violâtre foncé ». — Après ces détails, il était évident que la matière amylacée des Floridées n'est pas identique avec l'amidon typique; il n'est pas superflu de le rappeler, d'abord pour attirer de nouveau l'attention sur ce corps intéressant, et ensuite parce qu'on le confond encore souvent avec l'amidon ordinaire.

Les quelques Floridées que j'ai étudiées au point de vue microchimique m'ont offert des réactions analogues à celles de *Lemanea.* C'est ainsi que tous les tissus de *Nitophyllum punctatum* Harv. (conservé dans l'eau salée) se colorent en brun intense par l'iode, surtout les trois ou quatre couches cellulaires les plus externes du thalle, de même que les tétraspores et les cellules qui les avoisinent. La coloration tient au contenu cellulaire, non aux membranes; on ne reconnaît pas de granules spéciaux. Le contenu passe au jaune lorsqu'on l'écrase dans l'eau. Il paraît en résulter que la substance brunie se dissout dans l'eau en laissant un squelette protoplasmique; au contraire, chez le *Lemanea* (conservé dans l'alcool), je n'avais pas réussi à constater ce fait. — Dans le *Ceramium ciliatum* (conservé dans l'alcool), les grands articles de la tige ont peu de protoplasme, qui se colore en jaune pâle; les petites cellules des nœuds renferment beaucoup de granules qui deviennent d'un brun acajou semblable à celui du glycogène de *Peziza vesiculosa.* — Le *Polysiphonia fastigiata* (*Rhytiphlœa fast.*) contient aussi, dans les grandes cellules de sa tige, des grains blancs, réfringents,

[1] Van Tieghem, *Note sur les globules amylacés des Floridées et des Corallinées.* (Ann. sc. nat., Botan. (5), t. IV, 1865, p. 317.)

[2] Rosanoff, *Notice sur le pigment rouge des Floridées.* (Ann. sc. nat., Botan. (5), t. IV, 1865, p. 322.)

qui se colorent, par l'iode, du rouge-brun au violet sale; la matière colorée par l'iode ne se dissout pas sensiblement dans l'eau. Les membranes de ces grandes cellules deviennent rouge-brun par le réactif iodé, comme celles de l'albumen d'*Iris* ou d'*Allium*. Au contraire, dans les extrémités végétatives jeunes de *Polysiphonia,* les membranes ne se colorent pas et il n'y a pas de granules réfringents.

Je n'ai pas eu à ma disposition de Floridées vivantes pour m'assurer que les granules amylacés y existent déjà [1]; en effet, il n'est pas impossible, à priori, que ces granules se forment seulement après la mort et surtout dans l'alcool, comme les sphéro-cristaux d'inuline. On sait que Nägeli croit avoir trouvé l'inuline chez une Siphonée (*Acetabularia mediterranea*) [2], qui renferme d'ailleurs des grains de chlorophylle et de l'amidon.

Mousses. *Fontinalis antipyretica* L. — Tout le tissu, près du point vegétatif, se colore en brun par l'iode, y compris la plupart des jeunes grains de chlorophylle.

Phanérogames. *Graines.* — Dans son traité classique, Nägeli a établi que la grande majorité des spores et des graines ne renferme pas d'amidon. Il fait ressortir que c'est alors l'huile ou les parois cellulaires épaissies qui constituent la réserve non azotée; parfois aussi il y a une substance mucilagineuse (Malvacées) [3]. Il est probable que d'autres corps peuvent encore jouer, dans certains cas, un rôle analogue : tels sont les glycosides [4], les sucres, les corps voisins du glycogène.

Les parois cellulaires épaissies sont très fréquentes dans les graines privées d'amidon. On sait que, d'après Sachs, elles remplissent, dans la datte, le rôle de matériaux de réserve. Ne devrait-on pas leur attribuer aussi cette signification dans la plupart des autres cas et leur accorder, à ce point de vue, plus d'importance qu'on ne le fait généralement? — Elles prennent d'ordinaire une couleur brûnatre ou violacée par l'iode (comme le font les parois de beaucoup de fibres végétales [5]) : Nägeli l'a signalé pour beaucoup de Xérotidées, Liliacées, Smilacées, Iridées, Amaryllidées, Hydrophyllées, Primulacées, Papilionacées [6]. Mais cette réaction n'est pas générale; il est facile de s'en assurer sur certaines graines

---

[1] [Ils existent déjà dans la cellule vivante, comme j'ai pu m'en assurer depuis et comme Van Tieghem l'avait déjà constaté en 1865. Note ajoutée en 1902.]

[2] Nägeli und Schwendener, *Das Mikroskop*, 2te Aufl., 1877, p. 511; — Nägeli, *Sitzungsb. d. k. bayr. Akad. d. Wiss., München*, 1862, Bd I, p. 314; — Sachs, *Bot. Zeit.*, 1864, p. 77.

[3] Nägeli, *Die Stärkekörner*, 1858, pp. 397, 565.

[4] Sur les tannins, voy. Wigand, *Bot. Zeit.*, 1862, p. 121 sqq.; — Sachs, *ibid.*, p. 246.

[5] de Bary, *Vergl. Anat.*, 1877, pp. 140, 497.

[6] Nageli, *loc. cit.*, p. 543 sqq.

de Papilionacées (*Cassia*) dont les parois cellulaires épaissies deviennent jaunes par l'iode; Nägeli avait vu la même chose chez le *Tamus* et plusieurs Myrtacées.

Je n'ai pas trouvé jusqu'ici de graine où l'existence du glycogène pût se démontrer avec certitude par voie microchimique. Plusieurs contiennent cependant des substances qui se colorent en brun par l'iode et qui peuvent appartenir au groupe du glycogène; mais les réactions n'ont pas la netteté qui permet les déterminations sûres. J'en donnerai un exemple ; il fait connaître en même temps la manière dont les parois épaissies de l'albumen se conduisent vis-à-vis des alcalis et des acides.

La graine mûre d'*Allium Cepa* L. contient de l'huile et pas d'amidon. Les cellules de l'embryon ont des parois minces; après ébullition avec la potasse, elles gonflent et bleuissent par l'iode. Leur protoplasme, riche en huile, prend par l'iode une couleur brun acajou, analogue à celle du glycogène; la matière colorable paraît se dissoudre dans l'eau quand on écrase l embryon sur le porte-objet et il reste un protoplasme teint en jaune d'or. Au contraire, les membranes cellulaires de l'albumen sont très épaisses, cornées, brillantes, fortement réfringentes; elles deviennent rouge-brun par l'iode. Le contenu devient jaune orangé. Une ébullition de quelques minutes dans l'eau ou la potasse caustique diluée n'enlève pas à ces membranes la faculté de se colorer en rouge-brun ; mais, après ébullition avec l'acide chlorhydrique étendu, elles perdent de leur réfringence et deviennent jaune pâle par l'iode. La potasse fait très bien apparaître leurs ponctuations et dissout presque tout le contenu cellulaire.

Les graines d'*Iris Pseudo-Acorus* L. présentent un albumen corné très analogue, dont les membranes cellulaires deviennent successivement jaunâtres, rosées, violettes et enfin d'un beau rouge-brun par l'iode L'écrasement sur le porte-objet ne leur enlève rien de la substance qui se colore ainsi.

Parmi les graines amylacées, je mentionnerai celles de *Faba vulgaris* Mönch. Elles ont beaucoup d'amidon dans les cotylédons et n'en ont pas dans la plumule ; dans les deux régions, le protoplasme se colore en jaune par l'iode. Mais, de part et d'autre, on observe dans les cellules épidermiques un protoplasme plus dense, qui prend avec l'iode une coloration brun rougeâtre : pour les cotylédons, c'est surtout à l'épiderme de la face supérieure; dans la plumule, la réaction s'étend aux deux à trois assises sous-épidermiques.

D'autres graines (*Acacia Sophoræ, Cassia* sp., *Euphorbia Myrsinites, Cucurbita Pepo, Ricinus communis,* etc.) ne m'ont offert, sous l'action de l'iode, aucune coloration brune marquée.

Méristèmes et tissus jeunes. — Par l'emploi de l'iode, une réaction brune plus ou moins nette s'observe fréquemment dans le protoplasme des jeunes plantules et des jeunes bourgeons, surtout au voisinage du point végétatif. Tel est le cas pour les plantules de *Linum usitatissimum* (p. 32), *Faba vulgaris* (jeunes plantes de 5 à 20 centimètres : la réaction brune ou brun rougeâtre est surtout marquée

près de la coiffe radiculaire, dans le liber des jeunes faisceaux, à la pointe de la tigelle, dans les poils unicellulaires, dans l'épiderme; cette réaction s'observe aussi bien dans les jeunes plantes vertes que dans les étiolées); les bourgeons de *Mahonia repens* (p. 34), *Stellaria media, Hedera Helix, Syringa vulgaris, Sambucus, Verbascum, Orobanche Rapum* (près des faisceaux fibro-vasculaires), *Iris germanica* (bourgeons et jeunes feuilles), *Pinus, Abies excelsa, Taxus baccata*, etc.

Dans les tissus adultes, c'est d'ordinaire l'épiderme qui conserve le plus longtemps et le mieux marquée la réaction brune par l'iode.

Il me reste encore à mentionner le *Monotropa Hypopitys*. On sait que, d'après Schacht et Drude, ce parasite est toujours privé d'amidon. « Le *Monotropa*, dit Drude [1], n'en possède pas moins une matière de réserve; seulement elle est à l'état de dissolution dans la plante vivante. Si l'on conserve des plantes jeunes ou vieilles pendant deux à trois jours dans l'alcool à 90 %, on trouve un corps très analogue à l'amidon, déposé dans toutes les régions où l'amidon s'accumule chez le *Neottia;* mais ce corps est en moindre quantité. Il a presque le reflet de l'amidon, mais une teinte un peu verdâtre; par l'addition d'iode, il se colore en brun et, peu à peu, en noir brunâtre, tandis que les noyaux et le protoplasme restent d'un jaune pur. Comme il ne devient pas rouge brique par le nitrate de mercure, on ne peut le regarder comme de l'aleurone, et je ne connais absolument aucune substance analogue; il est probable qu'il est caractéristique pour *Monotropa.* » Aussi Drude propose-t-il de le nommer *monotropine*. Il ajoute [2] que l'on ne trouve quelques grains de monotropine dans la plante encore vivante que lorsque la nutrition est très abondante.

D'après ce qui précède, il est facile de voir que la monotropine a quelque ressemblance avec l'inuline; comme elle, elle est dissoute en grande quantité dans la cellule vivante; comme elle, elle se précipite en granules par l'alcool. Mes observations sur des exemplaires de *Monotropa* conservés dans l'alcool qu'a bien voulu m'envoyer M. le professeur Reess, d'Erlangen, me permettent d'ajouter encore quelques traits à cette analogie : les granules de monotropine ne se dissolvent pas dans l'eau froide; l'eau chaude les dissout facilement et ils ne se reprécipitent pas par le refroidissement. La potasse les gonfle un peu, l'addition d'acide chlorhydrique les contracte de nouveau; après ce traitement, ils ont conservé la propriété de se colorer en brun par l'iode. L'acide chlorhydrique concentré rend leurs contours très pâles sans les gonfler sensiblement. Des gra-

[1] DRUDE, *Die Biologie von Monotropa und Neottia*. Göttingen, 1873, p. 48.

[2] DRUDE, *loc. cit*, p. 49. [Pour ma part, j'ai toujours vu ces granules exister déjà dans les cellules vivantes de *Monotropa Hypopitys*, et je ne puis confirmer l'indication de Drude, d'après qui ils seraient seulement produits par l'action de l'alcool. Voir plus loin : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux*, 1902. Dans le texte ci-dessus, j'ai admis, sur les données de Drude, que la « monotropine » se trouverait à l'état de dissolution dans la plante fraîche.]

nules de 3-5 μ de diamètre ne rétablissent pas la lumière entre nicols croisés; il en est de même pour les petits grains d'inuline [1]. — Ces réactions prouvent que les granules de monotropine sont très analogues aux granules d'inuline : ils s'en distinguent par le brunissement intense sous l'influence de l'iode et le gonflement par les alcalis. L'inuline, comme on sait, ne se colore point par l'iode autrement ou plus fort que le liquide ambiant, et ses sphéro-cristaux ne gonflent pas par les alcalis. (Cependant j'ai constaté que les grains d'inuline amorphe, extraite des tissus, se gonflent en se dissolvant dans la potasse.)

Çà et là, je trouve dans les cellules de *Monotropa* des granules semblables de taille et d'aspect aux grains de monotropine, mais qui ne se colorent point par l'iode [2].

Tubes criblés. — Le contenu des tubes criblés de *Cucurbita Pepo* et surtout le cal de leurs plaques criblées se colorent en brun acajou par l'iode. Quand on écrase fortement la masse sur le porte-objet, elle passe au jaune brunâtre comme si la substance colorée en acajou se dissolvait plus ou moins dans le liquide. On sait aussi d'après Russow [3] que le cal d'*Abies excelsa* et de *Larix sibirica* est partiellement soluble dans l'eau et dans la glycérine.

Latex. — Des recherches ultérieures auront à nous apprendre si le latex de diverses plantes ne contient pas des corps voisins du glycogène qui y rempliraient le même rôle que les bâtonnets d'amidon du latex des Euphorbiacées ou le sucre de celui du Mûrier. Faivre [4] a trouvé, par exemple, « de l'hydrate de carbone » dans les laticifères du *Tragopogon porrifolius,* mais sans préciser sa nature. Dans ses recherches microchimiques sur le latex, A. Vogl n'indique généralement qu'une coloration en jaune d'or par l'iode [5], ce qui ne révélerait que des albuminoïdes; mais chez l'*Asclepias curassavica* [6], il signale une coloration en « jaune d'or ou jaune-brun ». A tous égards, l'étude chimique du latex mériterait d'être reprise.

[1] Dragendorff, *Materialien zu einer Monogr. des Inulins.* Sanct-Petersburg, 1870, p. 70.

[2] Nägeli (*Stärkekörner,* 1858, pp. 192-193, 407) a signalé chez le *Chelidonium majus* des « grains d'amidon » qui se colorent en rouge-brun par l'iode et passent au violet en se desséchant. Il a vu des granules analogues dans une pomme verte; il est remarquable qu'il ne fasse pas ressortir cette analogie. — On ne sait pas au juste quelle substance forme ces granules, pas plus qu'on ne le sait pour les granules des Floridées; Van Tieghem (*Traité de Botanique,* pp. 513, 517) suppose toutes ces substances identiques avec celle qui constitue le squelette des grains d'amidon traités par la salive ou l'acide sulfurique étendu (*cellulose amylacée, amylose*). On voit combien d'obscurité règne encore sur les divers hydrates de carbone des végétaux, malgré tant d'excellents travaux qui s'en occupent.

[3] Russow, *Bot. Zeit.,* 1881, p. 724.

[4] Faivre, *Comptes rendus,* t. LXXXVIII, 1879, p. 272.

[5] A. Vogl, *Pringsheim's Jahrb.,* V, 1866, pp. 36, 40, 42, 64.

[6] Id., *ibid.,* p. 49.

VIII

ÉVOLUTION ET RÔLE PHYSIOLOGIQUE DU GLYCOGÈNE CHEZ LES PLANTES.

Plusieurs problèmes sont à résoudre au sujet de l'évolution et du rôle du glycogène chez les plantes. Sans doute, il y a lieu d'admettre que dans les tissus végétaux aussi bien que dans les tissus animaux, partout où le glycogène s'emmagasine, il représente une réserve hydrocarbonée, et cela avec une double fonction, respiratoire et histogénétique; ou, si l'on veut, il sert à la fois comme matériel de combustion et comme matériel de construction. Si l'on se borne à ne l'envisager que chez les Ascomycètes, il semble même déjà permis de déduire quelques conclusions plus précises et d'énoncer quelques hypothèses plausibles.

La source du glycogène des Champignons ne saurait se chercher que dans leurs aliments organiques; on ne peut songer, en effet, en l'absence de chlorophylle, à une synthèse directe. A en juger par les données de la physiologie animale, le glycogène peut d'ailleurs être formé par l'organisme aussi bien aux dépens des hydrates de carbone que des albuminoïdes; en revanche, les graisses ne sont pas aptes à en fournir, ainsi que Claude Bernard l'avait reconnu dès l'origine de ses travaux [1].

On sait que chez les animaux, le glycogène, diffus dans la plupart des tissus embryonnaires, se localise à l'âge adulte surtout dans le foie. D'après mes observations, les Ascomycètes nous offriraient des phénomènes analogues. Là aussi (*Ascobolus furfuraceus*, *Peziza vesiculosa*), le glycogène est d'abord répandu dans tout le

[1] Cl. Bernard, *Union médicale*, 1859, t. I, p. 556. — [Toutefois, lors de la germination, les graisses peuvent régénérer du *glycogène transitoire*, comme je l'ai constaté ultérieurement. Voir, plus loin : *Les réserves hydrocarbonées des Champignons*. Note ajoutée en 1902.]

tissu, pour se concentrer ensuite [presque exclusivement] dans les asques, vers l'époque de la formation des spores. Les paraphyses n'en renferment jamais en proportion appréciable. « Ce qui est curieux, dit Cl. Bernard [1], c'est que le foie, qui chez l'adulte sera le lieu d'élection de la formation glycogénique, ne contient encore aucune trace de cette substance [chez le fœtus]. » De même, les asques ne renferment d'abord pas ou presque pas de glycogène; puis, peu à peu, ce corps s'y accumule en très grande quantité et bientôt il se sépare du reste du contenu de l'asque et s'y localise dans l'épiplasme.

Mais ici se présente une différence facile à prévoir entre l'accumulation glycogénique du foie et celle des asques. Le foie renouvelle normalement sa provision de glycogène en proportion de ce que l'organisme en consomme. Les asques, au contraire, ne sont que des organes de reproduction, des générateurs de spores : aussi le glycogène y disparaît-il au fur et à mesure que les spores se développent. S'il fallait absolument trouver un fait plus ou moins parallèle dans le règne animal, on pourrait rappeler que le glycogène s'amasse chez les Crustacés au moment de la mue et qu'il disparaît après que l'animal s'est entouré de la nouvelle carapace.

Une portion, assez notable peut-être, du glycogène de l'épiplasme pourra servir de combustible à la plante et se détruire par son activité respiratoire. Mais ce qui paraît certain, c'est qu'une partie doit être utilisée pour le développement des spores : de Bary l'a déjà supposé [2]. Il est aisé de s'en convaincre, tout au moins chez les Truffes, dont les spores grandissent beaucoup en mûrissant, tandis que le tissu filamenteux, en dehors des asques, est très pauvre en contenu et ne saurait puiser d'aliments dans le sol avec lequel il n'est plus en connexion : il est donc évident que les spores des Truffes se développent d'une manière à peu près exclusive aux dépens du contenu de l'asque.

Un autre fait conduit à la même conclusion : le *Tuber melano-*

---

[1] Cl. Bernard, *Phénom. de la vie*, etc., t. I, p. 238.

[2] de Bary, *Ueber die Fruchtentwicklung der Ascomyceten*, 1863, p. 23.

sporum forme en général quatre spores dans chaque asque, dont une ou plusieurs peuvent subir des arrêts d'évolution et avorter. Or l'asque, qui ne contient presque jamais trace d'épiplasme à la maturité quand les quatre spores y atteignent leur complet développement, en renferme souvent un peu quand trois spores seules se développent, et davantage s'il n'y en a que deux ou une. Mais — détail significatif — si la spore unique ou les deux spores sont beaucoup plus grosses que d'habitude, il n'y a plus que peu ou point d'épiplasme qui ait persisté dans l'asque mûr.

Pour quelle partie de la spore le glycogène fournit-il plus spécialement les matériaux? De Bary était porté à admettre que c'est surtout « pour la membrane ou pour le revêtement gélatineux que celle-ci présente souvent (par exemple : *Peziza convexula, P. melæna*) ». Il conclut toutefois par ces mots, qui laissent la question indécise : « Mais nous n'avons jusqu'ici aucune preuve certaine que cela ait lieu ; d'après les observations que nous possédons, il est tout aussi possible que l'épiplasme ne contribue directement en rien au développement des spores [1] ».

J'ai dit tantôt les raisons pour lesquelles il ne me semble pas douteux que l'épiplasme procure en réalité des matériaux aux spores, et j'ajouterai qu'il me paraît probable, tout au moins chez les Truffes, qu'il contribue à produire leur contenu huileux, beaucoup plus que leur membrane.

Il serait trop long d'exposer ici la genèse des spores de *Tuber,* qui diffère passablement de ce qu'on a coutume d'admettre. Mais il est nécessaire de dire qu'elles se forment, d'une manière simultanée, aux dépens d'une partie seulement du protoplasme de l'asque et qu'au moment de leur naissance elles s'entourent d'une membrane mince et lisse (endospore). Le reste du protoplasme de l'asque se condense ensuite autour d'elles et se différencie pour constituer les épaississements, les pointes ou le réticulum de l'exospore : exemple intéressant d'une membrane formée en partie suivant le type classique et en partie par apposition du dehors,

[1] de Bary, *loc. cit.*

par métamorphose d'une masse protoplasmique, ainsi que de Bary l'a si bien décrit pour le *Peronospora*.

La quantité d'épiplasme ne diminue pas d'une manière sensible jusqu'au moment où les jeunes spores ont acquis leur exospore. Mais, après ce moment, elle décroît progressivement et en même temps une matière huileuse s'accumule dans les spores.

L'acide osmique permet de suivre les étapes de cette accumulation d'huile. On voit apparaître, dans le protoplasme des spores, de très petites gouttelettes de 0,5 μ de diamètre qui déjà brunissent nettement par l'acide osmique; ces gouttelettes, d'abord isolées, se réunissent bientôt par groupes. Lorsque la spore a à peu près atteint sa grandeur définitive, les gouttes d'huile ont un diamètre de 3-5 μ et elles forment, à une douzaine ou davantage, un amas unique à l'intérieur de la spore. La membrane de la spore se charge alors peu à peu de pigment foncé, tandis que les gouttes deviennent de plus en plus grandes, remplissent toute la spore, s'aplatissent par pression réciproque et finissent par se fusionner en un petit nombre de grosses gouttes; à la complète maturité, celles-ci se réunissent elles-mêmes en une seule goutte qui occupe à peu près toute la spore. Il existe toujours un protoplasme fondamental granuleux entre les gouttes d'huile; on le reconnaît surtout par l'emploi d'une solution de carbonate de soude.

Cette huile est un mélange de diverses substances difficiles à déterminer par voie microchimique; elle paraît renfermer, entre autres, une certaine proportion de cholestérine. Je crois, comme je l'ai dit, pouvoir établir un lien génétique entre ces matières huileuses et l'épiplasme; car

1° d'où viendrait l'huile, si ce n'est de l'épiplasme?

2° où irait l'épiplasme (qu'on voit disparaître comme tel), s'il ne donnait naissance à l'huile?

Les considérations qui précèdent ne se rapportent qu'aux *Tuber*, mais elles paraissent encore applicables à d'autres Ascomycètes. C'est ainsi qu'on trouve une assez grande quantité d'huile dans les spores de *Peziza Acetabulum, Helvella elastica* [1]; et nous savons que

---

[1] DE BARY, *Morphol. u. Physiol. der Pilze*, etc., 1866, p. 132.

ces espèces contiennent de l'épiplasme. D'autres *(Pez. vesiculosa, Pez. sclerotiorum, Helvella esculenta)* n'ont que deux petites gouttes huileuses aux deux foyers de leurs spores elliptiques [1]; dans ce cas, il semble que l'huile soit bien peu abondante pour que sa formation ait pu consommer tout le glycogène disponible dans l'épiplasme, d'autant plus que *P. vesiculosa* en renferme précisément beaucoup. Mais il serait prématuré d'émettre des hypothèses sur les substances auxquelles le glycogène pourrait encore donner naissance chez ces Champignons : peut-être en emploient-ils beaucoup pour leur respiration.

Une observation très intéressante de de Bary doit enfin être rappelée : elle semble parler en faveur de la genèse de l'huile des spores aux dépens du glycogène, telle que je cherche à la rendre probable. De Bary, en traitant par l'iode des spores de *Peziza tuberosa* et de *P. hemisphærica*, a vu apparaître « des corps arrondis ou irréguliers, invisibles auparavant, qui prenaient la couleur brun-rouge de l'épiplasme, tandis que le reste du contenu devenait jaune [2] »; ces corps se trouvent aux deux foyers de l'ellipse, c'est-à-dire aux endroits mêmes où des espèces voisines ont des gouttelettes huileuses.

Il n'y a jusqu'ici rien de spécial à dire sur le rôle des principes plus ou moins voisins du glycogène que j'ai trouvés dans la Levure, dans le *Lemanea* et dans trois Phanérogames et qui certainement existent encore ailleurs.

Le mécanisme de la formation des graisses aux dépens du glycogène [3] est très probablement le même ou à peu près qu'aux dépens

---

[1] *P. sclerotiorum* a souvent une seule goutte, centrale ou excentrique.

[2] DE BARY, *ibid.*, pp. 132-133.

[3] En physiologie animale, l'hypothèse de la formation de graisse au moyen du glycogène a été soutenue par divers auteurs, notamment par Pavy (Cf. HOPPE-SEYLER, *Physiol. Chemie*, Bd IV, 1881, pp. 1002 sqq.). On sait qu'en physiologie végétale, l'hypothèse de Mohl et Sachs, de la transformation de l'amidon en graisse, a été généralement adoptée. Les expériences récentes de Nägeli et Loew (*Ueber die Fettbildung bei den niederen Pilzen*, SITZUNGSB. K. BAYR. AKAD., 1879, I, p. 287) ont aussi établi que les Champignons inférieurs peuvent former

de l'amidon; et quoique les détails du processus soient inconnus dans les deux cas, sa réalité est à peine douteuse. Une seule chose est incontestable : c'est, en somme, un phénomène de réduction, et comme il se fait indépendamment de la chlorophylle, l'oxygène en excès ne saurait devenir libre; il doit se porter sur une partie de la molécule hydrocarbonée et la détruire en produisant de l'acide carbonique et de l'eau par respiration intramoléculaire, pour fournir aux autres groupes d'atomes l'énergie nécessaire à la genèse des graisses. Le rôle respiratoire des hydrates de carbone et leur rôle plastique apparaissent ici comme corrélatifs l'un de l'autre. A l'appui de cette manière de voir, on peut rappeler que, tout récemment encore, Godlewski [1] a signalé, pour des fruits dans lesquels des corps gras se formaient en même temps que de l'amidon disparaissait, une production d'acide carbonique plus grande que celle qui répondait à l'oxygène absorbé : cet excès ne peut provenir que d'une respiration intramoléculaire.

Si l'on cherche à mettre en équation la production des graisses en partant des hydrates de carbone, on remarque qu'il tendrait à se dégager de l'hydrogène, l'oxygène qui se trouve en excès n'étant pas assez abondant pour brûler tout le résidu de carbone et d'hydrogène qu'il a à sa disposition dans les molécules qui prennent part à la réaction [2].

---

de la graisse, soit qu'on les nourrisse avec des peptones, soit qu'on mette à leur disposition des hydrates de carbone.

[1] Travail en polonais, analysé dans le *Biol. Centralbl.*, 1er avril 1882, p. 69.

[2] Le schéma le plus simple possible pour la formation de trioléine, par exemple, sans dégagement d'oxygène, serait :

$$14\,C^6H^{10}O^5 + 4\,O^2 = (C^{18}H^{33}O)^3\,C^3H^5O^3 + 27\,CO^2 + 18\,H^2O$$

Hydrate de carbone. — Trioléine.

ou, plus généralement :

$$(14 + n)\,C^6H^{10}O^5 + (4 + 6n)\,O^2 = (C^{18}H^{33}O)^3C^3H^5O^3 + (27 + 6n)\,CO^2 + (18 + 5n)\,H^2O.$$

Hoppe-Seyler (*Physiol. Chemie*, p. 1007) arrive aussi à trouver un résidu d'hydrogène inemployé dans la transformation des hydrates de carbone en graisses.

On comprend donc que la réaction puisse être facilitée par l'intervention de l'oxygène atmosphérique, qui s'empare du résidu combustible. Ainsi s'explique peut-être la nécessité, en apparence paradoxale, de l'accès d'air pour la formation des graisses dans les Champignons inférieurs, nécessité que Nägeli a signalée [1], mais dont il n'est pas parvenu à donner la raison.

IX

GLYCOGÈNES ET AMYLODEXTRINES.

Sans empiéter sur le domaine de la chimie pure, je voudrais examiner rapidement ici, au point de vue de la physiologie végétale, quelques questions chimiques que soulève la recherche du glycogène chez les plantes.

Et d'abord, y a-t-il un ou plusieurs glycogènes? Les avis sont très partagés, mais il me semble bien ressortir du travail soigneux de Boehm et Hoffmann [2] qu'il existe plusieurs corps qui ne sont pas identiques avec le glycogène du foie des mammifères et qui en sont pourtant assez voisins pour être réunis avec lui sous une dénomination commune : le groupe du glycogène. La même opinion se dégage pour moi des recherches que j'ai faites chez les végétaux. Boehm et Hoffmann ont étudié cinq corps de ce groupe : le glycogène du foie, le glycogène des muscles, le xanthoglycogène, l'achrooglycogène et la glycogène-dextrine. L'achroodextrine de Brücke dont ils parlent aussi n'appartient plus à ce groupe.

---

[1] NÄGELI und LOEW, *Fettbildung*, LOC. CIT., pp. 296-297.

[2] BOEHM und HOFFMANN, *Beitr. z. Kenntniss des Glykogens und seiner Derivate.* (ARCH. F. EXPER. PATHOL., Bd X, 1879, p. 12.) — Claude Bernard, Kühne, Naunyn, v. Vintschgau et Dietl, v. Mering, Külz, Landwehr, etc., se sont aussi occupés de cette question.

Ces glycogènes sont tous des hydrates de carbone $C^6H^{10}O^5$, Aq. On peut citer comme leurs propriétés caractéristiques que leurs solutions aqueuses sont opalescentes, fortement dextrogyres (+ 211° ou même davantage), facilement précipitées par l'alcool (environ 2 volumes d'alcool suffisent) et sans la moindre action réductrice sur les réactifs de Fehling et de Trommer. Ils diffèrent entre eux par le degré de leur opalescence et de leur coloration par l'iode, comme Boehm et Hoffmann l'ont établi [1].

Pour ce qui est des plantes, le glycogène de *Peziza vesiculosa* est, par toutes ses propriétés connues, absolument identique avec le glycogène du foie. Celui de *Tuber*, traité par l'iode, présente sous le microscope une nuance plus rouge, moins brune, que celui de *Peziza* et d'*Ascobolus :* cette différence légère, mais incontestable et constante, peut être due au glycogène lui-même ou à l'effet de quelque substance qui l'accompagne, car on sait combien les réactions iodées tiennent à peu de chose. Dans la première alternative, ce glycogène nous rappellerait celui des muscles. — Les nuances que l'iode provoque chez d'autres Ascomycètes ont été indiquées aux deux premiers paragraphes de ce travail, d'après les observations de de Bary et les miennes. Je n'ai pas à y revenir.

Quant aux substances que j'ai extraites du *Lemanea* et de quelques Phanérogames, elles se rapprochent certes des glycogènes, mais, en présence des difficultés de l'analyse, il vaut peut-être mieux ne pas décider encore si l'on doit ou non les rattacher définitivement à ce groupe.

La substance du *Lemanea* (et probablement d'autres Floridées) offre un intérêt spécial en ce qu'elle a quelque chose d'intermédiaire entre le glycogène et l'amidon. Elle forme des grains insolubles à froid, comme l'amidon; mais ces grains brunissent au lieu de bleuir par l'iode. Beaucoup d'iode les rend presque noirs, ce qui indique qu'ils ont une grande affinité pour ce réactif. On se souviendra aussi qu'en présence d'une très petite quantité d'iode,

[1] [Sur tous ces points, voir plus loin l'excellente *Étude chimique* de CLAUTRIAU.]

j'ai vu la substance extraite par une lessive étendue et tiède de soude caustique se colorer en violet rougeâtre : tous ces caractères pourraient faire penser à un mélange de très peu d'amidon avec quelque amylodextrine. Mais, d'un autre côté, la légère opalescence et l'absence de tout pouvoir réducteur rappellent le groupe du glycogène. Van Tieghem a admis récemment [1], mais sans preuves suffisantes à ce qu'il semble, que cette substance est la même que celle qui forme le squelette des grains d'amidon ordinaires. En somme, l'amidon des Floridées diffère un peu de celui des autres plantes, de même que leur chlorophylle n'est pas absolument identique, d'après Pringsheim et Nebelung [2], avec celle des végétaux supérieurs [3].

Les dextrines et les amylodextrines obtenues par W. Nägeli par l'action des acides étendus sur l'amidon sont des corps qui se rapprochent beaucoup du groupe du glycogène. L' « amidon soluble » de Musculus est aussi une amylodextrine [4].

J'ai préparé plusieurs amylodextrines au moyen de l'amidon de pomme de terre; l'une d'elles, remarquable par l'opalescence de ses solutions et par la facilité avec laquelle l'alcool la précipite, mérite d'être mentionnée. J'ai laissé de l'amidon en contact, à froid, pendant seize heures avec six fois son poids d'acide sulfurique au dixième, puis j'ai chauffé presque à l'ébullition pendant huit minutes: J'ai filtré et additionné la liqueur de deux fois son volume d'alcool absolu : il s'y forme un très léger précipité, qu'on recueille et qu'on lave avec un mélange de 2 volumes d'alcool et 1 volume d'eau. Le précipité a les propriétés que voici : il fournit des solu-

---

[1] Cf. supra, p. 50, note 2.

[2] *Locc. citt.* supra, p. 31, note 1.

[3] [Voir plus loin, au sujet de ces grains, ma Note : *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux*, 1902.]

[4] W. Nägeli, *Beitr. z. näheren Kenntniss der Stärkegruppe*. Leipzig, 1874; — Musculus, *Comptes rendus*, t. LXX, 1870, p. 857; t. LXXVIII, 1874, p 1413; t. LXXXVIII, 1879, p. 612; *Bot. Zeit.*, 30 mai 1879.

tions faiblement, mais nettement, opalescentes [1]; l'opalescence disparaît par la soude caustique; il colore l'iode en brun; il est soluble dans un mélange de volumes égaux d'eau et d'alcool absolu, insoluble dans un mélange de 1 volume d'eau pour 2 volumes d'alcool. Ces caractères le font ressembler au glycogène. Mais il s'en distingue absolument parce qu'il réduit le réactif de Trommer et que l'alcool le précipite en petits granules qui se transforment, après quelques heures, en fines aiguilles cristallines enchevêtrées, semblables à celles des amylodextrines que W. Nägeli a représentées à la figure 9 de sa planche.

Les acides étendus et les ferments agissent d'une façon très analogue sur le glycogène et sur l'amidon. Il semble pourtant que les produits dérivés du glycogène n'aient pas autant de tendance que ceux de l'amidon à réduire les liqueurs cupro-alcalines, car l'existence d'une glycogène-dextrine non réductrice est certaine, tandis que l'existence d'une amylodextrine ou d'une dextrine dérivée de l'amidon, ne réduisant pas les réactifs cuivrés, est toujours discutée : admise par Brücke, Bondonneau et O'Sullivan, elle est contestée par W. Nägeli, Musculus, v. Mering, Barfoed, etc.

Les étapes *principales* de la saccharification, telles qu'elles paraissent résulter de l'ensemble des travaux sur la matière [2], pourraient se résumer de la façon suivante, qui fait ressortir le parallélisme entre le glycogène et l'amidon :

SACCHARIFICATION

DU GLYCOGÈNE.	DE L'AMIDON.
1. Glycogène.	1. Amidon.
2. Glycogène-dextrine.	2. Amylodextrine.
3. Achroodextrine.	3. Achroodextrine.
4. Maltose.	4. Maltose.
5. Dextrose.	5. Dextrose.

[1] W. Nägeli, *Stärkegruppe*, 1874, p. 29, dit que les solutions concentrées de ses amylodextrines sont « fluorescentes »; c'est là évidemment une erreur : il veut sans doute dire « opalescentes ».

[2] Parmi les plus récents et les plus importants, on peut citer : W. Nägeli, *op. cit.*; — Kühne, *Lehrb. d. physiol. Chem.*, 1868, p. 63; — Musculus et v. Mering, *Hoppe-Seyler's Zeitschr.*, Bd II, 1878, p. 403; — etc., etc.

On sait que le mécanisme de cette saccharification a été interprété par deux théories différentes : celle de Payen et W. Nägeli, qui veut que la dextrine produite se transforme à son tour en sucre ; et celle de Musculus et O'Sullivan, d'après laquelle l'hydrate de carbone se dédoublerait en dextrine et sucre. Le fait, signalé à propos du *Peziza vesiculosa*, qu'au commencement de la saccharification du glycogene, on peut obtenir de la glycogène-dextrine, sans aucun corps réducteur, ce fait, dis-je, ainsi que plusieurs autres me semblent inconciliables avec la seconde théorie.

D'après ce qui précède, on pourrait essayer le schéma suivant pour le groupement des hydrates de carbone qui nous occupent ici :

I. GROUPE DE LA CELLULOSE.

II. GROUPE DU GLYCOGÈNE.	III. GROUPE DE L'AMIDON.
Corps incristallisables ; solutions opalescentes, ne réduisant pas les liqueurs cupro-alcalines.	Corps cristallisables, biréfringents, avec une tendance marquée à former des sphéro-cristaux ; solutions très peu ou point opalescentes.
Dextrogyres :	Dextrogyres :
Glycogène du foie. *Glycogène des muscles.* *Xanthoglycogène.* *Achrooglycogène.* *Glycogène-dextrine.*	*Amidon* [1]. *Amylodextrines.* Lévogyre : *Inuline.*

IV. GROUPE DE LA DEXTRINE.

[1] J'admets ici, avec W. Schimper (*Unters. üb. d. Wachsthum d. Stärkekörner*, Bot. Zeit., 1881, p. 15 du tiré à part), que les grains d'amidon sont des *sphéro-cristaux*, ou, mieux, des *sphéro-cristalloïdes*. Les amylodextrines forment, à proprement parler, des *disco-cristaux* (Nägeli), l'inuline, des *sphéro-cristaux*.

J'ai toujours parlé, dans ce travail, du glycogène comme d'un corps soluble dans l'eau, et, en effet, il traverse parfaitement les filtres avec ce liquide. Pourtant, à proprement parler, il ne s'y dissout pas, il ne s'y résout pas en ses molécules : il y forme seulement une sorte d'empois mince, à un état de division mécanique et de gonflement extrêmes. Brücke l'a prouvé [1] en montrant que la prétendue solution diffuse la lumière et que cette lumière est polarisée, absolument comme lorsque de petites particules solides, réfléchissantes, sont suspendues dans l'eau. Boehm et Hoffmann en ont aussi donné une élégante démonstration [2], fondée sur ce que les solutions de glycogène enlèvent aux globules sanguins leur matière colorante, comme le fait l'eau pure, tandis que les solutions salines ou sucrées laissent les globules colorés.

Von Vintschgau et Dietl ont reconnu [3], par le même procédé que Brücke, que leur β-glycogène-dextrine (probablement identique avec la glycogène-dextrine de Kühne), qui donne des solutions limpides, n'est cependant, en réalité, pas plus soluble que le glycogène.

J'en puis dire autant de cette amylodextrine que Musculus a décrite sous le nom d'*amidon soluble :* elle ne forme pas non plus une véritable solution, comme on l'a admis jusqu'ici. J'ai pu me servir pour cette expérience d'un peu d'amidon soluble de M. Musculus lui-même, que je dois à l'obligeance de M. Arthur Meyer, assistant à l'Institut pharmaceutique de Strasbourg. J'ai concentré, au moyen d'une lentille, un faisceau de rayons solaires et j'ai interposé sur son parcours une solution aqueuse, soigneusement filtrée, d'amidon soluble. Le trajet des rayons, dans le liquide, s'illumine nettement, et la lumière que le liquide diffuse, examinée au moyen de l'analyseur de Hartnack, apparaît en grande partie polarisée. Le liquide lui-même, tout à fait transparent à la lumière transmise, présente une très faible opalescence à la lumière

---

[1] Brücke, *Vorles. üb. Physiologie,* 3[te] Aufl., Bd I, 1881, p. 325.
[2] Boehm und Hoffmann, *Arch. f. exp. Pathol.,* Bd X, 1879, p. 1.
[3] v. Vintschgau und Dietl, *Pflüger's Archiv,* Bd XVII, 1878, pp. 160-161.

réfléchie. Ainsi l' « amidon soluble » est, en majeure partie au moins, suspendu, mais non dissous dans l'eau, et à ce point de vue, il se conduit tout à fait comme la glycogène-dextrine : c'est une nouvelle analogie entre les amylodextrines et les glycogènes. Pour être sûr que le phénomène que je viens de décrire provient bien de l'amylodextrine et non d'une trace de l'amidon primitif qui restait dans le liquide, je l'ai fait bouillir pendant une dizaine de minutes avec de l'acide sulfurique très faible : les plus petites quantités d'iode colorent alors le liquide en rouge et non plus en bleu ou en violet, de sorte qu'il n'y a plus du tout d'amidon ordinaire en présence. Le liquide, deux fois filtré, n'en a pas moins présenté toutes les propriétés optiques dont je viens de parler : il est donc établi qu'elles appartiennent à l' « amidon soluble » — et certainement aussi aux autres amylodextrines.

Les solutions d'inuline, préparées à chaud, refroidies et filtrées deux fois s'illuminent aussi, d'après mes observations, sur le trajet des rayons et les renvoient faiblement polarisés : l'inuline, elle aussi, n'est donc qu'en partie dissoute dans ses solutions. Ce fait concorde très bien avec les autres propriétés connues des solutions d'inuline et explique la facilité avec laquelle cette substance donne des solutions sursaturées : la portion d'inuline vraiment dissoute correspond à l'*inuline cristalline difficilement soluble, diffusible*, de Dragendorff, et la portion qui est seulement en suspension mécanique répond à son *inuline colloïdale facilement soluble, non diffusible* [1].

La propriété de donner de ces *pseudo-solutions* se retrouve ainsi chez tous les hydrates de carbone dont le poids moléculaire est probablement très élevé : amidon, glycogène, amylodextrine, glycogène-dextrine, inuline. La faculté de se colorer par l'iode ne serait-elle pas en relation avec cette propriété? Cela me paraît au plus haut point vraisemblable, car on sait que les colorations provoquées par l'iode sont dues, non à des combinaisons, mais à des

[1] Dragendorff, *Materialien z. einer Monogr. d. Inulins*, 1870, pp. 55, 64, 66 et passim.

répartitions moléculaires plus ou moins denses de l'iode entre les particules de la substance organique qu'il colore. Mais ce n'est pas assez qu'un hydrate de carbone soit finement suspendu dans l'eau pour qu'il offre une réaction avec l'iode : l'inuline le prouve. La non-solubilité de l'hydrate de carbone paraît donc représenter une condition nécessaire, mais non pas suffisante, pour obtenir une coloration caractéristique.

Au point de vue physiologique, les pseudo solutions jouent un rôle important. Le fait que l'inuline et le glycogène sont seulement suspendus et non dissous dans le suc cellulaire nous permet, en effet, de comprendre comment ces substances se déposent dans certaines cellules et s'y accumulent presque indéfiniment, à la façon des grains d'amidon ou des grains protéiques.

X

RÉSULTATS GÉNÉRAUX.

Dans son excellente *Chimie physiologique,* Hoppe-Seyler a fait remarquer que les substances albuminoïdes, la cholestérine, la lécithine, le glycogène, les sels de potassium et probablement la nucléine ne font défaut à aucune cellule animale jeune, capable de développement. Toutes ces substances avaient été constatées aussi dans le règne végétal; seul le glycogène n'y était connu que dans les Myxomycètes. Il n'est pas sans intérêt, semble-t-il, de savoir maintenant qu'il existe aussi dans des organismes incontestablement végétaux. L'unité des phénomènes vitaux dans les deux règnes y gagne une preuve de plus.

L'espoir qu'on avait caressé de trouver peut-être dans le glycogène « ce critérium vainement cherché depuis si longtemps, qui permettrait de fixer les limites des deux règnes, animal et végé-

tal [1] », cet espoir ne s'est point réalisé. Cela était à prévoir. Et l'on ne court pas grand risque d'être faux prophète en prédisant qu'un tel critérium ne se trouvera pas, parce que les limites elles-mêmes n'existent que dans nos classifications.

Les recherches les plus récentes, notamment celles de Schimper et de Dehnecke, ont enrichi d'une façon heureuse nos connaissances sur la genèse de l'amidon et portent à distinguer, beaucoup plus nettement qu'on ne le faisait, la production de substance organique et la formation de grains d'amidon. A ce point de vue, l'existence du glycogène chez les plantes n'est pas sans importance.

La synthèse de ***substance organique*** au moyen d'acide carbonique et d'eau, avec dégagement d'oxygène, reste l'apanage de l'appareil chlorophyllien.

La formation de ***grains d'amidon*** aux dépens de composés ternaires (probablement sucrés) préexistants est sans doute toujours liée à des corps protoplasmiques spéciaux, les amyloplastes [2] de Schimper. La chlorophylle n'a rien à voir dans ce phénomène.

Enfin, dans les deux règnes, le protoplasme ordinaire, je veux dire non différencié en amyloplastes, est capable de former, au moyen de corps ternaires dissous, un hydrate de carbone voisin de l'amidon : *le glycogène.*

Il est donc probable que des corps chimiques distincts président à ces trois actes chimiques différents : *a.* réduction de l'acide carbonique et de l'eau ; *b.* transformation de la matière organique en grains d'amidon, et *c.* transformation de la matière organique en

[1] CERTES, *Sur la glycogenèse chez les Infusoires.* (COMPTES RENDUS, t. XC, 1880, p. 79.)

[2] Le mot *Stärkebildner* de Schimper (*Bot. Zeit.*, 1880, col. 886) a été assez malheureusement traduit par « corpuscules amylogènes » (*Ann. Sc. nat.* (6), t. XI, 1881, p. 258) : *amylogène* a déjà été employé pour désigner tant de choses différentes, que je me permets de proposer, d'accord avec mon ami M. Schimper, le terme d'*amyloplastes ;* il paraît aussi préférable à celui de *leucites actifs* de Van Tieghem. (*Traité de Botanique*, p. 486.)

glycogène. La chlorophylle seule peut accomplir le premier acte; le second et le troisième sont sans doute opérés par des ferments, dont l'un doit exister à la fois dans les corps chlorophylliens et les amyloplastes incolores, tandis que l'autre, moins localisé encore, se retrouve chez les protoplasmes les plus divers.

Parmi les plantes, je n'ai rencontré jusqu'à présent le glycogène, *avec une certitude absolue*, que dans des Champignons. Mais toutes les autres plantes étudiées, qu'elles renferment de l'amidon ou qu'elles en soient privées, m'ont fourni dans leurs extraits aqueux une substance non azotée, précipitable par l'alcool, qui ne bleuit pas l'iode et qui ne réduit l'oxyde de cuivre alcalin qu'après ébullition avec les acides. Ce résultat, qu'une détermination plus précise de la substance devra compléter, n'en a pas moins, je crois, dès maintenant, quelque intérêt et nous révèle une cause d'erreur dans plusieurs analyses de végétaux que d'autres auteurs ont publiées. C'est ainsi que la *diastase* préparée par le procédé de Payen et Persoz a dû souvent être accompagnée d'une semblable substance qui tendait alors à rendre les quantités de sucre, produites par l'effet de cette diastase, plus grandes qu'elles n'auraient dû l'être et d'autant plus excessives qu'on employait plus de diastase : c'est ce qui paraît, en effet, être arrivé dans certaines expériences.

Pour terminer, je résumerai les principales conclusions qui se dégagent de ce travail :

1. Le GLYCOGÈNE ou « AMIDON ANIMAL » n'existe pas seulement chez les Animaux, où Claude Bernard l'a découvert, et chez les Protistes, où il a été signalé d'abord par Kühne : on le trouve aussi chez des Plantes.

2. Beaucoup de CHAMPIGNONS ASCOMYCÈTES en renferment dans leur tissu et dans leurs asques. Le *Pilobolus* et, presque certainement, la Levure de bière en contiennent également. L'identité du glycogène du *Peziza vesiculosa*, que j'ai étudié le plus en détail, avec le glycogène du foie des Mammifères est complète.

3. L'ÉPIPLASME des asques d'Ascomycètes, entrevu par Tulasne et décrit par de Bary, est formé d'une masse spongieuse, très probablement albuminoïde, toute imprégnée d'un empois de glycogène.

4. Même EN DEHORS DES CHAMPIGNONS, toutes les plantes étudiées (*Lemanea, Linum, Mahonia, Solanum*) renferment des substances tout au moins analogues au glycogène, non azotées, donnant des solutions aqueuses plus ou moins opalescentes, qui brunissent plus ou moins par l'iode, ne réduisant absolument pas les réactifs cupro-alcalins, mais se transformant en corps réducteurs par l'ébullition avec l'acide sulfurique étendu.

5. Il existe aussi des CORPS RÉDUCTEURS, analogues aux dextrines, dans les extraits aqueux de plusieurs plantes (*Tuber*, *Agaricus*, *Solanum*); chez d'autres, nous ne les avons pas trouvés (*Peziza*, *Lemanea*).

6. Lorsqu'il n'est pas en trop petite quantité, le glycogène peut se déterminer, par VOIE MICROCHIMIQUE, à son aspect, à sa consistance demi-fluide, à l'absence de réaction avec l'acide osmique, le réactif de Millon et les sels de fer, à sa solubilité dans l'eau et à ce qu'il prend par l'iode une couleur brun acajou ou brun-rouge qui se dissipe par la chaleur et reparaît par le refroidissement. — Les substances protéiques, au contraire, deviennent jaunes plutôt que brunes par l'iode, et cette coloration ne diminue point par un échauffement modéré.

7. Le glycogène des Ascomycètes, d'abord diffus dans toute la jeune plante, comme il l'est dans le règne animal chez le fœtus, s'accumule bientôt dans les asques en quantité considérable, pour en disparaître à mesure que les spores mûrissent.

8. Il est utilisé pour le développement des spores. En dehors de son rôle éventuel de réserve respiratoire, il y a de bonnes raisons pour supposer que, chez les Truffes et probablement encore chez d'autres Ascomycètes, il fournit les matériaux pour la formation de l'huile des spores mûres.

9. Autour du glycogène et de l'amidon viennent se ranger quelques substances voisines : c'est ainsi que nous sommes amené à mettre en regard l'un de l'autre UN GROUPE DU GLYCOGÈNE ET UN GROUPE DE L'AMIDON. On peut, avec Boehm et Hoffmann, ranger dans le premier le glycogène du foie et celui des muscles, le xanthoglycogène, l'achrooglycogène et la glycogène-dextrine ; je place dans le second : l'amidon, les amylodextrines et l'inuline.

10. Le glycogène, la glycogène-dextrine, l'amidon, l'amylodextrine, l'inuline ne donnent pas avec l'eau des solutions véritables : ce ne sont que des espèces d'EMPOIS plus ou moins minces où la majeure partie de la substance est mécaniquement suspendue. Ce fait aide à comprendre l'emmagasinement du glycogène et de l'inuline dans des cellules déterminées.

A part quelques points accessoires, les recherches qui servent de base à ce travail ont été exécutées pendant le semestre d'hiver de 1881-1882, à l'Université de Strasbourg, dans le laboratoire de botanique de M. le professeur de Bary et dans celui de chimie physiologique de M. le professeur Hoppe-Seyler. Ce m'est un devoir bien agréable d'exprimer ici à ces Messieurs ma plus vive reconnaissance pour leurs précieux conseils et leur appui bienveillant.

THÈSES

MATHÉMATIQUES.

I. — La théorie des enveloppes, telle qu'elle est exposée dans le *Cours d'Analyse* de Sturm, a besoin d'être complétée.

II. — Soient un point lumineux mathématique et un plan quelconque passant par ce point : le lieu des éléments du plan qui reçoivent du point une quantité donnée de lumière n'est pas seulement un cercle, mais encore une série de lemniscates égales ayant toutes le point lumineux pour centre et le cercle pour enveloppe.

PHYSIQUE.

III. — Le magnétisme des corps simples est périodiquement dépendant de leur poids atomique.

BOTANIQUE.

IV. — Il n'existe aucune différence chimique entre le règne végétal et le règne animal.

V. — Les différenciations du noyau pendant la division des cellules végétales (caryocinèse) sont encore plus semblables qu'on ne l'admet généralement à celles que Flemming et d'autres ont décrites en détail pour le règne animal.

VI. — Les spores des Truffes ne naissent pas successivement, comme on l'a cru jusqu'ici, mais simultanément dans chaque asque.

VII. — La membrane des spores des Truffes est, en grande partie, de nature protéique. Elle se forme, au moins partiellement, par l'apposition externe et la métamorphose d'une couche protoplasmique.

VIII. — Le principe de Sachs de la section rectangulaire des cloisons trouve sa cause immédiate dans la forme géométrique du corps d'achromatine dans lequel apparaît la plaque cellulaire. Ce corps peut être regardé, en général, comme un ellipsoïde de révolution : il ne saurait donc être tangent en son équateur à une surface donnée qu'à la condition que son plan équatorial soit (sensiblement) perpendiculaire à la surface.

IX. — Le principe de Sachs de la section rectangulaire des cloisons n'entraîne pas nécessairement une disposition en trajectoires orthogonales : cette disposition n'est qu'un cas limite dont les tissus s'approchent d'autant plus que leurs cellules sont plus petites. A ce point de vue, les cloisons en apparence obliques des rhizoïdes des Mousses et de Chara sont très instructives.

X. — Quand une plante contient dans ses réservoirs nutritifs à la fois des hydrates de carbone et des graisses, il est très probable qu'à cette dualité chimique répond aussi une dualité fonctionnelle, les premiers étant surtout histogénétiques, les secondes surtout respiratoires. On peut invoquer à l'appui leur répartition dans les graines, leur structure chimique, leur chaleur de combustion (hydrates de carbone : environ 4,000 calories par kilogramme; graisses : environ 9,000 calories).

XI. — Il y a de sérieuses raisons pour regarder les Solanées comme les ancêtres immédiats des Scrophularinées.

HISTOIRE DES SCIENCES.

XII. — La loi de la chute des corps dans le vide, attribuée souvent à Benedetti (1553), se trouve déjà clairement exprimée dans Lucrèce (*De Rerum Natura*, II, 238-239).

SUR
LE GLYCOGÈNE CHEZ LES MUCORINÉES

PAR

L. ERRERA [1].

Beaucoup de Champignons ascomycètes contiennent dans leur tissu et surtout dans leurs asques une matière réfringente, colorable en rouge-brun ou en brun acajou par l'iode. Comme je crois l'avoir établi [2], cette matière est essentiellement formée de glycogène.

En me servant des réactions microchimiques indiquées en détail dans le travail que je viens de citer, j'ai réussi, depuis, à constater la présence de glycogène chez tous les Champignons du groupe des Mucorinées que j'ai examinés à ce point de vue. Déjà, du reste, dans ma thèse d'agrégation, je signalais cette substance chez le *Pilobolus cristallinus* et j'émettais l'opinion qu'elle existe également chez la plupart des autres Mucorinées [3] : les observations suivantes viennent à l'appui de cette manière de voir, en même temps qu'elles me paraissent montrer l'utilité de la méthode microchimique pour déceler le glycogène chez les plantes.

Le contenu du mycélium, des filaments fructifères et des sporanges jeunes du *Phycomyces nitens* Knze est assez fortement

---

[1] Cette Note a paru dans les *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 3e série, t. IV, no 11; novembre 1882.

[2] *L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux*. Thèse d'agrégation. Bruxelles, 1882, ou ci-dessus dans le présent *Recueil*.

[3] *Op. cit.*, pp. 27, 47; ou *Recueil*, t. I, pp. 23, 42.

réfringent et opalescent. Il se colore en brun acajou rougeâtre par l'iode [1]; la nuance pâlit beaucoup lorsqu'on chauffe la préparation et réapparaît avec son intensité première par le refroidissement. Si l'on écrase un filament entre le porte-objet et le verre couvreur, après l'avoir traité par une solution iodée assez étendue, on voit la substance teinte en brun se dissoudre dans le liquide et y former un nuage brun rougeâtre : il reste un protoplasme coloré en jaune d'or. D'après tous ces faits, le *Phycomyces* renferme du glycogène. Ce glycogène ne se présente pas en amas localisés et circonscrits, comme c'est le cas ordinaire dans les asques des Ascomycètes; il constitue une sorte d'empois qui imbibe le protoplasme. Son abondance varie d'un point à l'autre de la cellule, de la même manière à peu près que je l'ai décrit pour le *Pilobolus*. Quand on fait agir sur le *Phycomyces* de l'alcool fort, le protoplasme, en se contractant, exprime de ses mailles le glycogène qui l'imprègne : celui-ci se répand dans le suc cellulaire où l'iode révèle sa présence.

La répartition du glycogène dans la cellule sporangifère présente aussi quelques différences suivant l'âge des filaments qu'on observe. Dans les filaments très jeunes, le glycogène est répandu par tout le protoplasme, mais on voit déjà qu'il se porte principalement dans la région apicale de la cellule. Cette tendance s'accentue dans la suite : au moment où le sporange va se former, presque tout le glycogène se concentre vers la pointe du filament et l'iode produit à cette place une teinte noirâtre, tandis que, plus bas, le contenu cellulaire se colore beaucoup moins. La quantité de glycogène ne paraît pas diminuer d'une manière notable par la formation du sporange : il y a donc lieu de penser que ce corps n'a pas pour rôle principal de fournir des matériaux à la membrane cellulaire; toutefois je n'entends pas nier la possibilité qu'il y contribue d'une façon subsidiaire. Quand le sporange a atteint sa grandeur définitive, mais que les spores n'y sont pas encore formées, le sporange et le sommet du filament sont riches en glycogène. A l'époque de

[1] On accélère la réaction en tuant d'abord le *Phycomyces* par l'alcool.

la complète maturité, on n'en trouve plus que peu dans le filament; les spores en renferment probablement une médiocre quantité. Il faut un certain temps pour que les spores brunissent par l'iode; elles commencent par ne prendre qu'une teinte jaune, ce qui m'avait porté à croire qu'elles ne contiennent pas de glycogène [1]; mais après dix ou quinze minutes, la nuance brune est bien apparente. Il m'a semblé que cette coloration pâlit quand on chauffe la préparation pour reparaître quand on la laisse refroidir. Sous l'action de la chaleur, la membrane des spores se gonfle, et l'on reconnaît alors avec toute la netteté désirable que c'est bien dans leur protoplasme et non dans leur membrane que se trouve la substance colorable en brun.

La membrane du filament sporangifère se colore en rose sale par l'iode, ce qui se voit naturellement le mieux avant qu'elle ait pris la teinte ardoisée qu'elle affecte à la maturité; celle des sporanges jeunes se colore en jaune pâle; celle des spores prend une nuance violâtre à peine sensible, qui se montre surtout après que la préparation a été chauffée.

En résumé, les réactions microchimiques révèlent l'existence du glycogène chez le *Phycomyces*. Il n'est pas impossible qu'une certaine quantité de la substance serve à la combustion respiratoire ou soit consommée pour l'accroissement de la membrane du filament et la formation de celle du sporange et des spores. Mais la plus grande portion paraît être utilisée pour le contenu des spores : elle s'y dépose probablement en partie à l'état de glycogène et peut-être s'y transforme-t-elle aussi en partie en d'autres corps.

Le *Mucor Mucedo* L. et le *M. stolonifer* Ehrbg. (*Rhizopus nigricans*) contiennent également du glycogène, mais moins abondamment que le *Phycomyces*, en sorte qu'il n'est pas facile d'obtenir des réactions nettes. Avec quelque attention, on arrive pourtant à se convaincre que la couleur brun acajou prise par le *M. Mucedo* sous

[1] *Op. cit.*, pp. 48-49, ou *Recueil*, t. I, p. 43.

l'influence de l'iode pâlit beaucoup à chaud et reparaît de nouveau par le refroidissement. Cette réaction appartient bien au contenu cellulaire et ne dépend en rien de la teinte rose que l'iode a communiquée à la membrane du filament et qui passe au violacé quand la préparation a été chauffée plusieurs fois. La répartition du glycogène dans les filaments aux différents âges est la même que chez le *Phycomyces*. Les spores se colorent aussi en brun acajou par l'iode.

La recherche microchimique du glycogène est surtout délicate chez le *M. stolonifer*, sans doute à cause de l'extrême sensibilité de son protoplasme que de petites quantités d'iode suffisent à coaguler complètement. Une fois coagulé, le protoplasme emprisonne le glycogène, auquel il est alors très difficile de faire perdre son iode par la chaleur et qui le reprend plus difficilement encore par le refroidissement. Toutefois, après quelques tâtonnements, on parvient à produire cette réaction. Le procédé suivant donne des résultats assez satisfaisants : on met de jeunes filaments sporangifères dans une goutte d'eau sur le porte-objet, on recouvre d'un verre couvreur, on presse légèrement pour faire éclater les sporanges et l'on ajoute tout de suite de l'iode. De cette façon, le glycogène se répand dans le liquide : il n'est plus entouré d'une masse coagulée et l'on s'assure qu'il se décolore à chaud, qu'il reprend à froid sa nuance brun-rouge et qu'il est soluble dans l'eau. Chez le *M. stolonifer*, le glycogène imbibe le protoplasme des stolons, des filaments fructifères et des sporanges jeunes. Par places, il est accumulé dans les filaments en masses opalescentes, réfringentes, à contour assez marqué, qui rappellent l'épiplasme des *Peziza* ou des *Ascobolus*. Comme chez le *Phycomyces* et le *M. Mucedo*, les membranes des fils fructifères deviennent d'un rose sale quand on les traite par l'iode.

Pour le *Pilobolus cristallinus* Tode, je n'ai rien à ajouter à ce que j'en ai dit dans ma thèse d'agrégation, où l'on trouvera mentionnées les observations antérieures de Coemans et de Klein. J'ai rencontré, depuis, une autre forme de *Pilobolus*, probablement le *P. Kleinii* Van Tiegh., qui m'a offert les mêmes caractères

microchimiques. Le *P. anomalus* Ces. (*Pilaira Cesatii* Van Tiegh.) contient beaucoup moins de glycogène que les *Pilobolus* typiques.

Enfin le *Chætocladium Jonesii* Brefd. (*Ch. Brefeldii* Van Tiegh.), le *Piptocephalis Freseniana* de By et Wor., les *Syncephalis nodosa* Van Tiegh. et *minima* Van Tiegh. ont aussi été examinés. Sous l'influence de l'iode, le contenu de leurs filaments végétatifs et fructifères et celui de leurs spores se colorent en brun-rouge ou en brun acajou. La coloration est surtout intense dans la tête terminale des *Syncephalis* et dans les pelotes de suçoirs que le *Chætocladium* produit au contact des tubes de *Mucor* qu'il envahit. J'ai pu me convaincre que la coloration brun-rouge du *Syncephalis minima* pâlit beaucoup à chaud et se fonce de nouveau par le refroidissement; je ne doute pas qu'il n'en soit de même pour les autres espèces.

On voit donc que le glycogène est très répandu chez les Mucorinées; peut-être même y est-il général. Tout ce qui précède se rapporte à des exemplaires vigoureux, car ceux qui sont mal nourris n'ont presque pas de glycogène.

Ces résultats ayant été obtenus par voie microchimique, il m'a paru intéressant de les contrôler en cherchant à isoler le glycogène de l'une des plantes étudiées. J'ai choisi le *Phycomyces* que j'ai cultivé en masse sur du pain. Au bout de peu de jours, j'en avais récolté une quantité relativement grande : les filaments, arrachés avec soin, débarrassés autant que possible des particules de pain qui peuvent y adhérer et séchés à l'air pèsent environ 40 grammes. Ils sont découpés, écrasés dans un mortier et mis à digérer avec de l'eau *froide* (afin de ne pas dissoudre les grains de fécule provenant des particules microscopiques de pain qu'on n'est pas sûr d'avoir exclues tout à fait). L'extrait aqueux ainsi préparé est traité suivant la méthode de Brücke [1]. Après l'action de l'acide chlorhydrique et de l'iodure double de mercure et de potassium,

[1] Cf. *Op. cit.*, § III.

l'alcool absolu (2 ½ volumes) provoque un très léger précipité blanc, pulvérulent, qui possède les propriétés suivantes : il est soluble dans l'eau froide en donnant un liquide opalescent qui colore en brun les dissolutions iodées; cette nuance brune pâlit lorsqu'on chauffe et se fonce de nouveau par le refroidissement; l'opalescence se dissipe par la potasse; la solution de notre substance dissout en bleu pâle l'oxyde de cuivre du réactif cupro-potassique sans le réduire à l'ébullition, et après avoir été bouillie un quart d'heure avec de l'acide sulfurique très étendu, elle acquiert la propriété de réduire l'oxyde de cuivre et le sous-nitrate de bismuth. Le précipité que produit l'alcool est donc du glycogène, ce qui confirme l'analyse microchimique [1].

[1] Pendant l'impression de cette note, l'examen microchimique m'a encore permis de reconnaître l'existence du glycogène chez deux Basidiomycètes : *Tremella mesenterica* et *Coprinus evanidus*. Celui-ci en contient, dans sa jeunesse, d'énormes quantités. Il se pourrait que chez les Champignons le glycogène tînt lieu très généralement de l'amidon des plantes à chlorophylle.

SUR

LE GLYCOGÈNE CHEZ LES BASIDIOMYCÈTES

PAR

L. ERRERA *.

On croyait jusqu'en ces derniers temps que le glycogène — ou amidon animal, comme on l'appelait souvent — n'existe que chez les animaux et manque complètement aux plantes. C'était là une erreur. Il s'est trouvé, au contraire, que cette substance est très répandue dans deux groupes de Champignons où j'ai été amené à la rechercher : les Ascomycètes et les Mucorinées, et l'on devait se demander si le fait n'est pas général. Le glycogène remplacerait alors chez les Champignons, de la même manière à peu près que chez les animaux, l'amidon des plantes ordinaires.

Cette généralisation se présentait d'elle-même à diverses reprises [1], et comme elle n'est pas sans importance pour la physiologie, elle méritait, semble-t-il, qu'on s'efforçât de la contrôler.

Il s'agissait avant tout d'étendre les recherches à la vaste classe des Basidiomycètes, qui comprend, comme on sait, les plus volumineux et, à bien des égards, les plus hautement organisés des Champignons. Un intérêt spécial s'attachait encore à l'étude de ce groupe. C'est surtout ici que Müntz a signalé de grandes quantités de tréhalose et de mannite, et l'on aurait pu supposer que ces

---

(*) Ce travail a paru dans les *Mémoires* in-8° de l'Acad. roy. de Belgique, t. XXXVII, 1885. Il y a eu aussi, la même année, une 2e éd. du tiré à part.

[1] L. ERRERA, *Épiplasme des Ascomycètes,* etc., 1882, p. 23 (ou, ci-dessus, p. 20), et *Glycogène chez les Mucorinées.* (BULL. ACAD. ROY. BELG., 3me sér., t. IV, p. 457, note (ou, ci-dessus, p. 76, note).



matières sucrées rendaient le glycogène superflu. Disons dès à présent qu'il n'en est rien, car nous avons retrouvé le glycogène chez la plupart des Basidiomycètes étudiés.

La présence très générale du glycogène chez les Champignons une fois établie, il y avait lieu de chercher ensuite à se rendre compte des fonctions que cette substance remplit dans leur nutrition et leur développement.

Telles sont les études que je me permets de communiquer aujourd'hui à l'Académie.

§ Ier — Méthode microchimique.

La méthode dont j'ai fait usage pour déceler le glycogène et en suivre la répartition dans les tissus est celle de l'examen microchimique. Si l'on procède comme je l'ai indiqué antérieurement [1], on obtient ainsi, après s'être un peu exercé, toute la certitude et la précision désirables. Je rappellerai que déjà chez trois espèces d'Ascomycètes et chez une des Mucorinées où j'étais arrivé, par la voie microchimique, à admettre l'existence du glycogène, j'ai cherché à isoler cette substance, et chaque fois l'analyse en grand est venue confirmer les résultats obtenus sous le microscope. Il en a encore été de même pour les Basidiomycètes : le glycogène a pu être extrait, comme on le verra plus loin, des deux espèces (*Clitocybe nebularis* et *Phallus impudicus*) où il a été recherché.

Aussi, dans tout ce qui va suivre, ai-je conclu à la présence du glycogène à l'intérieur des cellules, lorsque j'y observais une substance blanchâtre, amorphe, réfringente, se colorant en brun-rouge par l'iode, coloration qui pâlissait nettement à une température de 50° à 60° C. au plus, et qui reparaissait avec son intensité première par le refroidissement. Je tiens à répéter [2] que la coloration brune seule, sans l'action de la chaleur, ne suffit point à

---

[1] *Épipl. des Ascom.*, § VI.

[2] Cf. *loc. cit.*, pp. 46-47 (ou, ci-dessus, p. 41).

caractériser le glycogène, car elle peut provenir, par exemple, d'alcaloïdes ou de tannins; c'est un point sur lequel je me propose, du reste, de revenir à une autre occasion. Il doit donc être entendu que chaque fois que je dis d'un tissu qu'il renferme du glycogène, j'y ai constaté, d'une manière qui ne laissait aucune prise au doute, tous les caractères que je viens d'énumérer. Les cas douteux sont mentionnés expressément. Lorsque le glycogène se présentait en assez grande quantité, je me suis encore assuré, en écrasant légèrement la préparation après l'action de l'iode, que la matière colorée en brun se dissout dans la goutte d'eau du porte-objet.

J'ajouterai ici quelques indications au sujet de la solution d'iode à adopter.

Lorsqu'on en a acquis l'habitude, on n'arrive pas seulement à se rendre compte, par l'examen microchimique, de la présence ou de l'absence du glycogène et de sa localisation dans les diverses régions, mais on peut juger aussi, d'une manière approximative, d'après la nuance que l'iode communique à la préparation, de la plus ou moins grande quantité de glycogène que le tissu renferme. On comprend que pour cela il soit nécessaire de faire toujours usage d'une solution d'iode de même concentration. On ne doit pas, comme on le fait souvent, mettre la coupe à examiner dans une petite quantité d'eau sur le porte-objet et ajouter ensuite une goutte du réactif iodé, car ce procédé donne naturellement des concentrations très variées, suivant les proportions d'eau et de réactif mises en présence. On évite cet inconvénient en déposant directement le fragment de tissu, sans addition d'eau, dans une goutte de la solution d'iode elle-même. Les solutions que l'on emploie communément dans les laboratoires sont trop concentrées; après quelques essais, je me suis arrêté aux proportions suivantes :

Eau dist.	45 grammes.
KI crist.	0,3 »
I crist.	0,1 »

Ce liquide, qui sera désigné dans la suite sous le nom de « solution iodée au $^1/_{450}$ », doit être conservé à l'abri de la lumière dans

un flacon bien bouché ; malgré cela, il pâlit peu à peu en perdant de l'iode, et il est bon de le renouveler après trois ou quatre mois.

Un point essentiel est de mettre toujours en présence une goutte relativement grande de la solution au $^1/_{450}$ et de très petits fragments de tissu, pour que tous les éléments trouvent de l'iode en quantité suffisante. On recouvre ensuite du verre couvreur, on laisse bien pénétrer l'iode dans le tissu, on dilue avec un peu d'eau et l'on chauffe sur une flamme faible jusqu'à ce que la préparation, posée sur le dos de la main, commence à produire une sensation de cuisson, ce qui répond à la température d'environ 50°-60°. Avec ces précautions, le procédé est très sensible et fournit des résultats parfaitement comparables entre eux.

Lorsqu'il y a dans les tissus des quantités extraordinairement minimes de glycogène mêlé au protoplasme, la teinte que produit notre solution au $^1/_{450}$ est plutôt orangée que brune. Dans des cas semblables, on peut recourir à une solution plus concentrée — au $^1/_{100}$ par exemple — qui fait virer la nuance vers le brun-rouge; on dilue ensuite avec de l'eau et l'on chauffe comme d'habitude[1]. Mais il faut beaucoup d'exercice et de soins pour obtenir des résultats certains dans ces cas difficiles, au lieu que les tissus riches en glycogène donnent des réactions tellement frappantes que les moins expérimentés ne sauraient s'y tromper.

§ II. — Énumération des espèces qui renferment ou non du glycogène.

Je vais indiquer maintenant les espèces de Basidiomycètes chez lesquelles j'ai pu déceler du glycogène et celles qui ne m'en ont pas présenté.

De même que pour l'amidon des plantes ordinaires, la quantité de glycogène varie beaucoup chez les Champignons suivant l'état de nutrition et le degré de développement; il faut avoir examiné

[1] Voy. ci-après, par exemple, *Polyporus sulphureus*.

une espèce à tous les stades de sa végétation avant d'être certain que le glycogène fait complètement défaut chez elle, et il m'est arrivé plus d'une fois de trouver du glycogène à certaines phases ou dans certaines conditions particulières de développement chez un Champignon où j'en avais souvent cherché en vain jusqu'alors (par exemple, *Claudopus variabilis*). Il suffit de se rappeler, à titre de comparaison, que les feuilles de certaines plantes (*Strelitzia*, *Musa*) ne produisent d'amidon en quantité décelable que lorsque les conditions de nutrition sont exceptionnellement propices. Les résultats négatifs que m'ont donnés quelques Basidiomycètes ne doivent donc pas être regardés comme établis d'une façon définitive : à la vérité, je ne connais jusqu'ici aucun Champignon dont je puisse affirmer qu'il ne renferme de glycogène à aucune période de son existence.

Avant de passer à la description des résultats obtenus, je tiens à adresser mes vifs remerciements à Mesdames Bommer et Rousseau, qui ont eu l'obligeance de me fournir à maintes reprises des Champignons frais. Si j'ai réussi, comme je l'espère, à présenter une esquisse suffisante de la répartition du glycogène dans les diverses familles des Basidiomycètes, je le dois en grande partie à la connaissance approfondie que Mesdames Bommer et Rousseau possèdent de la flore mycologique de nos environs et à la libéralité avec laquelle elles ont bien voulu me faire une part dans leurs récoltes.

A. — HYMÉNOMYCÉTINÉES.

I. — AGARICACÉES.

1. **Agaricus (Amanita) phalloides** Fr. — Dans les exemplaires jeunes, on trouve à la base bulbeuse du stipe beaucoup de glycogène parfaitement caractérisé. Le milieu du stipe en présente peu, le sommet davantage, la volve et le chapeau très peu, la trame des lamelles médiocrement. Il y en a une certaine quantité dans les jeunes basides, où l'on observe une accumulation notable de gouttes d'huile, solubles dans l'alcool. La quantité de glycogène diminue assez brusquement au passage de la partie bulbeuse à la partie amincie du stipe. En même temps, le tissu, qui était filamenteux, acquiert une structure plutôt parenchymateuse.

A l'âge adulte, le glycogène a disparu de la base du stipe, qui devient molle et flasque, de dure et résistante qu'elle était. Il y a peu ou point de glycogène au milieu du stipe; en revanche, sa quantité a augmenté au sommet, au point d'attache du chapeau. Le chapeau n'en renferme presque pas; les basides en train de former leurs spores en ont une petite quantité, mêlée à beaucoup d'huile.

2. **Agaricus (Armillaria) melleus** Fr. — Contient beaucoup de glycogène. La substance se rencontre aussi bien dans le stipe que dans le chapeau et dans les basides; je reviendrai au § IV sur les détails de sa répartition dans ces diverses régions.

3. **Agaricus (Armillaria) mucidus** Schrad. — Beaucoup de glycogène dans tout le tissu et dans les basides.

4. **Agaricus (Tricholoma) nudus** Bull. — A l'état adulte, il présente du glycogène, surtout dans les jeunes basides.

5. **Agaricus (Tricholoma) terreus** Schaeff. — Pas de réaction nette de glycogène. (Les exemplaires que j'ai étudiés n'étaient plus

absolument frais, et je suis porté à croire que c'est là la raison pour laquelle j'ai obtenu un résultat négatif.)

6. **Agaricus (Clitocybe) nebularis** Batsch. — C'est une des espèces les plus riches en glycogène que je connaisse. Cette substance se trouve dans toutes les parties du Champignon et à tous les âges, mais principalement dans les individus jeunes et, chez ceux-ci, surtout dans le tissu lâche du stipe, ainsi qu'on le verra au § IV. Le glycogène se présente, comme toujours, dans les cellules, à l'état d'empois plus ou moins dense; tantôt cet empois est répandu par tout le protoplasme, tantôt — et c'est ici le cas le plus ordinaire — il est localisé et forme un ou deux amas brillants, réfringents, vers le milieu ou aux deux bouts de la cellule, rappelant ainsi ce qu'on observe dans les asques des Ascomycètes. La quantité de glycogène est très variable d'une cellule à l'autre et, à côté de cellules remplies, on en trouve qui en renferment peu ou point.

7. **Agaricus (Clitocybe) laccatus** Scop. — Énormément de glycogène.

8. **Agaricus (Collybia) velutipes** Curt. — Riche en glycogène. (Cf. infra § IV.)

9. **Agaricus (Mycena) galericulatus** Scop. — Un exemplaire adulte ne m'a pas présenté de glycogène dans son tissu, mais une réaction douteuse dans les basides. En revanche, ce Champignon contient beaucoup d'huile. Les membranes cellulaires, dans tout le tissu, se colorent en rose sale par l'iode, comme chez les *Mucor;* cette coloration ne pâlit pas à une douce chaleur.

10. **Agaricus (Pleurotus) ostreatus** Jacq. — Énormément de glycogène dans tout le tissu du chapeau et dans l'hyménium.

11. **Agaricus (Claudopus) variabilis** Pers. — L'étude de ce Champignon a été pour moi très instructive. J'en ai d'abord examiné un grand nombre d'échantillons, frais du matin même, aux

stades de développement les plus divers, sans obtenir nulle part de réaction de glycogène bien nette. Je commençais à penser que cette espèce est dépourvue de glycogène, lorsque je suis tombé sur un exemplaire qui en renfermait une quantité très considérable. La substance était des mieux caractérisées : coloration en rouge-brun par l'iode, action de la chaleur, solubilité dans l'eau, toutes les réactions s'obtenaient avec une netteté parfaite. Cet exemplaire rempli de glycogène croissait parmi les autres et avait été récolté en même temps qu'eux; ses lamelles et ses spores étaient normales, mais, pressé sans doute par ses voisins, il ne s'était pas étalé autant que les individus ordinaires et était resté ramassé sur lui-même. Il est donc probable qu'il n'avait pas pu utiliser tous ses produits d'assimilation d'une façon aussi complète que d'habitude : de là un résidu de glycogène non employé.

Plus tard, j'ai de nouveau observé beaucoup de glycogène dans un semblable exemplaire ramassé sur lui-même et j'en ai trouvé un peu dans un exemplaire ordinaire, très jeune. J'ai eu soin de m'assurer que le glycogène appartenait bien au tissu du *Claudopus* et non à quelque parasite.

On voit déjà par cet exemple que le glycogène se conduit en véritable substance plastique : comme l'amidon, il paraît là où l'apport de substances nutritives hydrocarbonées est plus grand que leur consommation, pour disparaître aussitôt que la consommation surpasse l'apport.

12. Agaricus (Psalliota) campestris L. — L'Agaric comestible m'a également fourni des résultats que je crois dignes d'intérêt. On sait que c'est l'une des espèces chez lesquelles Müntz [1] a trouvé de la mannite; j'en avais extrait en outre un corps réducteur, analogue aux dextrines, et j'y avais recherché le glycogène; mais des produits d'oxydation bruns viennent gêner à ce point l'analyse que je n'avais pu me prononcer avec certitude sur la nature du

[1] *Comptes rendus*, LXXXVI, 1873, p. 649.

corps obtenu par la méthode de Brücke [1]. Il était d'autant plus désirable d'examiner ce Champignon à nouveau.

Si l'on a soin de prendre des exemplaires robustes et bien frais, on s'assure aisément de la présence du glycogène, avec tous ses caractères microchimiques. Dans un individu *très jeune* (hauteur : 10^{mm}; diamètre du chapeau : 5^{mm}), dont le tissu commence à peine à se différencier, j'ai observé beaucoup de glycogène à la base du stipe, presque pas dans le tissu du chapeau.

Un individu *jeune* (hauteur : 30^{mm}; diamètre du chapeau : 18^{mm}), dont le voile est encore fermé, présente beaucoup de glycogène à la base du stipe, passablement au sommet, peu dans le chapeau.

Enfin, chez un individu *presque adulte* (hauteur : 43^{mm}; diamètre du chapeau : 33^{mm}), dont le voile est déjà déchiré, le glycogène, très abondant à la base du stipe, est assez abondant au sommet. Il y en a fort peu dans le tissu du chapeau et des lamelles, un peu davantage dans la couche hyméniale. Quand on traite les lamelles par l'iode, la légère réaction de glycogène se combine avec la nuance propre du tissu et produit la coloration brun-fauve que j'ai indiquée dans ma thèse (voir ci-dessus, p. 22).

13. Agaricus (Stropharia) squamosus Pers. — Assez de glycogène dans le stipe et surtout dans la couche hyméniale; point dans le reste du chapeau. Les basides jeunes sont remplies de glycogène, qui a disparu à la maturité des spores. Les paraphyses ont la même forme que les jeunes basides; elles en diffèrent en ce qu'elles présentent tout au plus des traces de glycogène. Je n'ai pas observé ici les cystides dont il va être question chez l'espèce suivante.

14. Agaricus (Stropharia) aeruginosus Curt. — Des coupes du stipe et du chapeau, à l'état adulte, traitées par l'iode, ne présentent partout qu'une réaction jaune, protoplasmique; l'hyménium seul devient rouge-brun. Cette nuance provient des cystides qui prennent presque toutes une coloration rougeâtre, tandis que les

---

[1] *Épipl. des Ascom.*, p. 25, ou, ci-dessus, p. 22.

basides se colorent en jaune à ce stade : il en résulte une élégante mosaïque rougeâtre sur fond jaune quand on regarde la surface latérale d'une lamelle ainsi traitée.

En examinant la préparation de plus près, on trouve toutefois un petit nombre de basides qui se sont aussi colorées en rouge-brun. La substance colorable est amorphe et imprègne le protoplasme vers le sommet de la baside : bien que la quantité soit si minime qu'on puisse très difficilement s'assurer de l'action de la chaleur, je me crois autorisé à admettre par analogie que c'est bien du glycogène.

Il n'en est pas de même pour le contenu des cystides; et, de fait, on comprendrait difficilement ce qu'une substance plastique comme le glycogène viendrait faire dans ces éléments, une fois que leur développement est achevé.

Les cystides ressemblent pour leur forme aux jeunes basides, mais s'en distinguent par leur sommet pointu. Elles renferment, outre leur noyau, un petit corps ellipsoïdal, nettement délimité, siège de la coloration rougeâtre que produit l'iode. J'ai rencontré ce corps dans les cystides de *Stropharia aeruginosa* et *Hypholoma fasciculare ;* afin de ne rien préjuger quant à sa nature, je l'appellerai simplement *corpuscule elliptique.*

A l'état vivant, le contenu des cystides a un aspect homogène, d'un blanc brillant ; on aperçoit, vers la base de la cellule, un corps discoïde réfringent suspendu dans le protoplasme : c'est le noyau; le corpuscule elliptique est invisible, mais il suffit d'ajouter un peu de la solution iodée au $^1/_{450}$ pour le faire apparaître dans la grande majorité des cystides. Ce corpuscule est plongé dans le protoplasme et forme un ellipsoïde allongé dans le même sens que la cystide dont il occupe le sommet. Il semble être creux, car on le voit assez souvent se recroqueviller. Ce n'est pas une simple cavité du protoplasme : il a une existence réelle, on peut l'isoler. Il présente un double contour. Quand on l'écrase, ce corps se brise d'une façon irrégulière, ce qui montre qu'il s'agit d'une substance solide et non d'un liquide. A la lumière polarisée, il n'est pas biréfringent.

D'après tout cela, le corpuscule en question constituerait à l'intérieur du protoplasme des cystides une petite poche creuse, close

de toutes parts, dont la paroi relativement épaisse serait colorable par l'iode.

Tous ces faits et, mieux encore, les réactions suivantes montrent que ce n'est pas à du glycogène que nous avons affaire ici : dans une préparation contenant à la fois de ces cystides et un tissu à glycogène, on voit que la quantité d'iode qui suffit à donner au glycogène la teinte acajou ne colore les corpuscules elliptiques qu'en jaune d'or un peu brunâtre. Il faut un excès d'iode pour les faire passer à une nuance rouge-brun analogue à celle du glycogène, mais toujours plus dorée. En même temps, le protoplasme des cystides devient jaune citron et leur noyau jaune d'or. La nuance des corpuscules ne change pas par la chaleur et, quand on les écrase, leur substance ne se dissout nullement dans le liquide aqueux ambiant. Ils retiennent très fortement l'iode : vient-on à laver la préparation à l'eau, on voit les cellules à glycogène se décolorer beaucoup plus vite que les corpuscules. On s'aperçoit, en somme, que les corpuscules absorbent et cèdent l'iode plus difficilement que ne le fait le glycogène. Il n'entrait pas dans le plan de ce travail de déterminer ce que les corpuscules représentent; il nous suffit de savoir pour le moment ce qu'ils ne sont pas.

15. Agaricus (Hypholoma) fascicularis Huds. — Ce Champignon, qui n'est pas l'un des plus riches en glycogène, en contient des proportions variables suivant les individus. Dans un exemplaire jeune dont le voile était en train de se déchirer, je n'en ai guère trouvé. A l'état adulte, la substance se localise dans le chapeau plutôt que dans le stipe; en outre, l'hyménium et la couche sous-hyméniale en renferment ordinairement un peu, tandis que la trame des lamelles ne présente pas la réaction.

Ce glycogène est parfaitement caractérisé. Il n'est pas tout à fait facile de démontrer sous le microscope sa solubilité dans l'eau, parce que, dans le chapeau, les membranes cellulaires sont remarquablement élastiques et résistantes : il en résulte que l'on a de la peine à les faire éclater par pression sous la lamelle de verre; mais après quelques essais, on y parvient de la façon la plus nette. Le fait se retrouve chez le *Collybia velutipes*.

Les cystides ont la même forme que celles du *Stropharia aeruginosa* et contiennent, comme elles, un corpuscule elliptique, avec toutes les propriétés que je viens d'indiquer pour cette espèce : il est donc inutile d'y revenir ici. J'ajouterai que le corpuscule elliptique des cystides se retrouve aussi bien chez les exemplaires jeunes que chez les exemplaires adultes.

16. Coprinus evanidus Godey. — Ce Champignon, que j'ai rencontré sur du crottin de Lapin, présente, quand il est très jeune, des quantités énormes de glycogène facile à caractériser. C'est ce que j'ai déjà signalé antérieurement [1].

La réaction se produit très forte dans tous les tissus : stipe, lamelles, basides, cystides. Seules, les grandes cellules rondes qui dérivent de la volve et couvrent la surface du chapeau ne prennent sous l'action de l'iode qu'une teinte jaune, protoplasmique. Le glycogène n'est pas uniformément réparti dans tout le stipe : il est surtout localisé dans certaines cellules larges, qui en sont pour ainsi dire gorgées et se trouvent répandues en assez grand nombre dans le tissu.

A la maturité des spores, le glycogène a presque complètement disparu. Les spores mûres elles-mêmes ne se colorent pas d'une façon marquée par l'iode.

17. Coprinus comatus Fr. — Dans les individus très jeunes (hauteur totale : 43^{mm}; distance du centre au bord du chapeau encore rabattu : 23^{mm}), on observe beaucoup de glycogène, notamment à la base renflée du stipe; il n'y en a presque pas dans l'hyménium. Un peu plus tard (hauteur totale : 90^{mm}; distance du centre au bord du chapeau : 65^{mm}), le glycogène est extrêmement abondant à la base renflée du stipe; il y en a assez dans le reste du stipe, presque pas dans le chapeau. On commence à en trouver une certaine quantité dans toutes les jeunes cellules de l'hyménium; il s'accumule surtout vers le sommet libre de ces cellules.

---

[1] *Glycog. chez les Mucorinées,* LOC. CIT., p. 457, note, ou, ci-dessus, p. 76, note.

18. Lactarius piperatus Fr., **19. Russula lepida** Fr. et **20. Russula emetica** Fr. — Contiennent beaucoup de glycogène. J'aurai à revenir en détail sur ces deux genres au § IV.

21. Lenzites betulina Fr. — L'iode provoque dans l'hyménium et le tissu des échantillons jeunes une légère coloration brune, que je rapporte avec doute à une petite quantité de glycogène. L'emploi de la chaleur et l'écrasement sur le porte-objet ne donnent pas de résultats nets. A l'âge adulte, on n'obtient plus qu'une coloration jaune ou jaune orangé qui ne paraît pas changer à chaud.

II. — POLYPORACÉES.

22. Boletus edulis Bull. — Un exemplaire presque adulte contient énormément de glycogène bien caractérisé à la base bulbeuse du stipe; peu dans le reste du stipe, le chapeau et le jeune hyménium.

23. Boletus chrysentereon Bull. — A l'âge adulte, le glycogène est assez abondant à la base du stipe; il n'y en a presque pas dans le reste du stipe et le tissu du chapeau, très peu dans les basides sporifères.

24. Boletus subtomentosus L. — On trouve, à l'âge adulte, un peu de glycogène dans le stipe et dans les basides sporifères; le tissu du chapeau n'en présente presque pas. Dans le stipe même, ce n'est guère que la partie inférieure, au niveau du sol, qui en renferme.

25. Polyporus sulphureus Fr. — Comme beaucoup de Champignons de consistance sèche et dense, ou subéreuse, ou coriace, il prend à l'état presque adulte une coloration orangée par le réactif au $^1/_{450}$, orangé brunâtre par une solution d'iode au $^1/_{100}$ [1]. Cette

[1] Cf. *supra*, pp. 79-80.

coloration est mieux marquée dans certaines cellules et beaucoup moins dans d'autres. Elle est, en somme, plus orangée que la nuance que les albuminoïdes donnent ordinairement et moins brune que lorsqu'il y a beaucoup de glycogène.

Chez cette espèce, j'ai pu me convaincre que la coloration est due à de très petites quantités de glycogène emprisonné dans le protoplasme. La nuance pâlit à chaud en passant au jaune et elle revient par le refroidissement. Il est donc probable que les réactions orangées observées dans d'autres cas analogues indiquent aussi des quantités minimes de glycogène fortement emprisonné dans le protoplasme et, par là, difficile à décolorer par la chaleur.

26. Polyporus fumosus Fr. — A l'âge adulte, il se colore seulement en jaune ou en jaune orangé par l'iode : une chaleur modérée ne paraît pas modifier la nuance.

27. Polyporus squamosus Fr. — Voici un Champignon coriace qui renferme du glycogène.

Mon examen a porté sur un individu adulte, très robuste. Les filaments dont la membrane est fortement épaissie ne présentent aucune réaction de glycogène. Mais dans les filaments à membrane mince, il y en a certainement une quantité modérée, surtout dans la couche sous-hyméniale et, à un moindre degré, dans la couche hyméniale et les tissus profonds. Le contenu se colore, en effet, en brun acajou faible, la teinte pâlit à chaud et reprend son intensité première par le refroidissement.

28. Polyporus giganteus Fr. — Il présente des quantités de glycogène très variables suivant l'état de développement et les conditions où il se trouve. Tantôt tout le tissu se colore seulement en jaune par l'iode; d'autres fois, on observe une coloration brun-rouge marquée, qui disparaît à chaud et revient nettement par le refroidissement.

Lorsque le glycogène est abondant, tous les filaments du tissu en présentent, mais il occupe toujours d'une manière prépondérante quelques articles qui se trouvent çà et là dans les divers filaments et se révèlent d'emblée par leur forte réfringence.

Si l'on examine ce Champignon à une période où son bord libre est en pleine croissance, on constate qu'il y a plus de glycogène à une certaine distance du bord qu'au bord lui-même. C'est un fait que nous aurons à rapprocher de l'absence d'amidon dans les points végétatifs.

Il faut n'étudier cette espèce que sur des échantillons nouvellement recueillis ou fixés par l'alcool lorsqu'ils étaient bien frais. Ce Champignon contient aussi une matière chromogène, soluble en rose dans l'alcool. Je l'ai soumise à quelques essais : elle est probablement identique avec celle que Thörner a extraite de l'*Agaricus* (*Paxillus*) *atro-tomentosus* [1]. Elle est parfois très abondante et peut masquer d'autres réactions microchimiques.

III. — HYDNACÉES.

29. Irpex obliquus Fr. — Réaction douteuse de glycogène : coloration faible en rouge-brun par l'iode, sans que la chaleur et l'écrasement donnent des résultats nets.

30. Hydnum imbricatum L. — Dans les échantillons robustes et bien frais, il y a une énorme quantité de glycogène, réfringent-opalescent, coloré en brun acajou par l'iode; la coloration disparaît par la chaleur et reparaît avec une parfaite évidence par le refroidissement.

Le glycogène se trouve en abondance dans tout le stipe et dans le chapeau; il est moins abondant dans le voisinage des pointes de l'hyménium; on n'en rencontre presque pas dans ces pointes mêmes, du moins à l'âge adulte. Le glycogène est partout renfermé dans des filaments allongés, à membrane mince.

Pour l'abondance du glycogène, cette espèce peut être mise sur la même ligne que le *Clitocybe nebularis*.

---

[1] THÖRNER, *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 1878, p. 533; 1879, p 1630.

IV. — THÉLÉPHORACÉES.

31. Stereum purpureum Pers. — Encore un exemple de Champignon coriace chez lequel on obtient, avec un peu d'attention, les réactions caractéristiques du glycogène. On en observe une médiocre quantité dans les filaments, même lorsque leur membrane est assez fortement épaissie; le très jeune hyménium, au contraire, ne se colore qu'en jaune par l'iode. Le tissu contient aussi des gouttelettes de diamètre varié et d'aspect huileux, auxquelles l'iode communique une nuance rouge brunâtre: la couleur ne change pas sensiblement par une chaleur modérée. Semblables gouttelettes ne sont pas rares chez les Champignons.

32. Stereum hirsutum Fr. — Pas de réaction certaine de glycogène.

V. — CLAVARIACÉES.

33. Clavaria rugosa Bull. — Le tissu hyménial et les spores renferment beaucoup d'huile, répartie en gouttelettes dans le protoplasme ou l'imbibant d'une manière uniforme. Cette huile est facilement soluble dans l'alcool, surtout lorsque l'on chauffe un peu. Parmi les gouttelettes d'huile, il en est qui se colorent à peine en jaune pâle par le réactif iodé; d'autres, identiques de grandeur et d'aspect aux premières, se colorent, au contraire, en rouge-brun vif. Les cellules de l'hyménium et les spores dont le protoplasme est uniformément imprégné de matière huileuse offrent la même diversité : tantôt elles se colorent en jaune, tantôt en rouge-brun par l'iode. Ces colorations brunes se dissipent avec grande difficulté par la chaleur et ne reparaissent plus nettement par le refroidissement. Je n'ai pas non plus pu observer que la matière colorée en brun se dissolve dans l'eau quand on l'écrase sous le verre couvreur. La question de savoir si, outre son huile, ce Champignon contient du glycogène n'est donc pas résolue. En tout cas, la quantité de glycogène serait minime.

34. Clavaria stricta Pers. — Pas de réaction certaine de glycogène.

VI. — EXOBASIDIACÉES.

35. Exobasidium Vaccinii Woron. — Les jeunes basides m'ont donné une réaction faible que je crois pouvoir rapporter au glycogène.

VII. — TRÉMELLINACÉES.

36. Tremella mesenterica Retz. — J'ai mentionné, il y a deux ans déjà, l'existence du glycogène chez cette espèce [1]. Le contenu protoplasmique des basides jeunes est imprégné d'une quantité médiocre de ce corps; je n'en ai point observé dans les filaments du tissu.

37. Tremella albida Huds. et **38. Tremella torta** Berk. renferment probablement du glycogène dans leurs basides. Les réactions sont toutefois moins marquées que chez l'espèce précédente.

B. — GASTROMYCÉTINÉES.

I. — HYMÉNOGASTRACÉES.

39. Scleroderma vulgare Fr. — Je me suis donné beaucoup de peine pour rechercher le glycogène chez cette espèce, mais toujours sans succès. J'ai examiné des échantillons frais à tous les degrés de développement, depuis ceux qui ont 2 millimètres de diamètre et sont formés de tissu blanc homogène jusqu'aux individus adultes et gros comme un œuf de poule; nulle part, je n'ai obtenu la moindre réaction de glycogène. Tout le tissu prend une teinte jaune sous l'action de l'iode, sauf les spores jeunes et encore

[1] *Glycog. chez les Mucorinées*, loc. cit., p. 457, note; ou, ci-dessus, p. 76.

incolores, qui deviennent brunes. Mais cette coloration brune paraît avoir son siège dans la membrane et non dans le contenu des spores; elle ne pâlit pas à la température de décoloration des tissus glycogénifères et, une fois dissipée par une forte chaleur, elle ne réapparaît point par le refroidissement. On doit donc conclure que le *Scleroderma* ne renferme pas, dans les conditions habituelles, une quantité sensible de glycogène.

40. Rhizopogon luteolus Tul. — Un exemplaire à demi adulte ne m'a pas présenté de glycogène.

II. — LYCOPERDACÉES.

41. Lycoperdon gemmatum Batsch. — Le glycogène est assez abondant dans les exemplaires jeunes. Ainsi que nous le verrons au § IV, il disparaît à mesure que le Champignon se développe.

III. — NIDULARIACÉES.

42. Crucibulum vulgare Tul. — Les individus jeunes, encore fermés, sont assez riches en glycogène. Les péridioles en présentent beaucoup, surtout dans les cellules sous-hyméniales et dans les jeunes basides. On n'en trouve presque pas dans la masse gélatineuse fondamentale, peu ou point dans les funicules.

A l'état adulte, le glycogène a disparu en majeure partie. Les spores mûres et le tissu à paroi épaisse des péridioles ne donnent aucune réaction. Certains éléments claviformes à lumière étroite qui appartiennent à l'hyménium et la masse fondamentale gélatineuse qui environne les spores paraissent seuls renfermer un peu de glycogène.

43. Cyathus striatus Hoffm. — Réaction très faible et douteuse dans certains éléments du tissu et dans les jeunes spores.

IV. — CARPOBOLACÉES.

44. Sphaerobolus stellatus Tode. — Comme je l'ai déjà indiqué[1], cet intéresssant Champignon a un véritable *organe à glycogène.*

Autour de la masse centrale des spores, on trouve une couche sphérique formée de cellules allongées, prismatiques, disposées radialement, étroitement serrées en palissade les unes contre les autres et surmontées à leur extrémité interne de cellules de même nature, plus petites, arrondies ou polyédriques. C'est dans ces deux sortes de cellules que le glycogène s'accumule en quantité prodigieuse : au moment où le péridium est prêt à s'ouvrir, elles en contiennent tellement que si l'on ajoute un peu plus d'iode qu'il ne faut, elles ne se colorent plus en rouge acajou, mais presque en noir. Le glycogène les remplit tout à fait et forme une masse dense, homogène, douée d'un éclat blanchâtre opalescent très marqué. On s'assure, en faisant éclater les cellules par une légère pression, que cette substance brillante est facilement et complètement soluble dans l'eau. L'essai par la chaleur donne aussi les résultats les plus nets.

Vers le haut, c'est-à-dire dans la région où le péridium se déchirera en étoile, la structure de la couche à glycogène est un peu différente; les cellules prismatiques deviennent de plus en plus courtes et, au sommet même, on n'observe plus que des cellules arrondies, polyédriques. En même temps que la forme des éléments se modifie ainsi, leur contenu n'est plus le même; il est de moins en moins brillant, de plus en plus jaunâtre et sa teneur en glycogène diminue.

En dehors de la couche dont nous parlons, le *Sphaerobolus* adulte ne présente pas de glycogène en proportion notable. Seule, la moitié inférieure de la couche pseudo-parenchymateuse en contient souvent une certaine quantité. Peut-être y en a-t-il aussi un

[1] *Bull. Soc. belge de microsc.*, 29 février 1884, p. 99.

peu dans la masse gélatineuse qui environne les spores, mais je n'oserais l'affirmer.

Notre couche à glycogène porte chez Pitra [1] et, tout dernièrement encore, chez Fischer [2], le nom de *couche de collenchyme*. C'est un terme que de Bary avait employé auparavant [3] pour désigner la couche intérieure du péridium externe des *Geaster*. Même pour ce genre, le terme n'est peut-être pas très heureux, mais il est à coup sûr inexact quand on l'applique au *Sphaerobolus*. Pitra l'avait choisi afin de rappeler l'épaisseur des membres et l'éclat particulier des cellules de cette couche. Mais cette épaisseur n'est en somme pas très considérable, et elle est partout la même, au rebours de ce qui caractérise le collenchyme. Quant à l'éclat opalescent, il provient surtout du glycogène et appartient ainsi au contenu cellulaire, ce qui, encore une fois, n'est pas le cas pour l'éclat du collenchyme. Le nom adopté par Pitra et Fischer ne saurait donc, me semble-t-il, être conservé; on pourrait le remplacer par celui de *couche à glycogène*.

Cette couche intervient d'une façon prépondérante dans l'ouverture du péridium et dans la brusque projection du sporange, comme l'ont établi Pitra et Fischer. Nous venons de voir que ce qui distingue avant tout cette couche, c'est son étonnante richesse en glycogène; il est naturel de se demander si ce corps ne joue pas un rôle dans les phénomènes de déhiscence et de projection. J'ai commencé des observations à ce sujet, mais comme elles ne sont pas complètement achevées et que, du reste, elles s'éloignent de l'objet principal de ce mémoire, je préfère les réserver pour un autre travail.

V. — PHALLACÉES.

45. Phallus impudicus L. — La dissémination des spores, obtenue chez le *Sphaerobolus* par la déhiscence du péridium et la

[1] *Bot. Zeit.*, 1870, p. 684.
[2] *Idem*, 1884, p. 442.
[3] *Morph. u. Phys. d. Pilze*, 1866, p. 80.

projection du sporange, est amenée chez le *Phallus* par l'élongation rapide et considérable du pédicelle. Ce sont là deux mécanismes dont il est aisé de saisir les différences, mais dont il n'est pas sans intérêt de rechercher aussi les analogies.

De part et d'autre, il s'agit d'élever la masse des spores au-dessus du substratum, et, dans les deux cas, le rôle actif appartient à une seule couche de tissu histologiquement déterminée; dans les deux cas, c'est par son accroissement et par sa turgescence que ce tissu intervient; enfin, dans les deux cas, le tissu accumule comme matière plastique beaucoup de glycogène, qui a disparu lorsque la croissance et l'augmentation de turgescence sont accomplies.

Le pédicelle spongieux du *Phallus* est, en effet, lui aussi, gorgé de glycogène avant son élongation, et rien n'est plus facile, comme on le verra au § IV, que de suivre la disparition progressive de cette substance à mesure que l'élongation se fait.

Nous indiquerons au même paragraphe la répartition du glycogène dans les autres tissus du *Phallus*.

46. Phallus caninus Huds. — J'ai également trouvé du glycogène dans le pédicelle de cette espèce.

§ III. — Extraction macrochimique du glycogène.

Avant d'examiner de plus près ce que la microchimie nous apprend sur les fonctions du glycogène, il sera bon peut-être d'augmenter la confiance du lecteur dans notre méthode microchimique elle-même, en indiquant l'épreuve à laquelle nous l'avons soumise.

Ainsi que nous l'avions fait auparavant pour les Ascomycètes et les Mucorinées, nous avons isolé le glycogène, par les procédés ordinaires de l'analyse chimique, chez deux des Basidiomycètes où le microscope nous avait révélé sa présence.



1. La méthode suivie pour l'extraction a été de nouveau celle de Brücke [1].

J'ai choisi, pour une première analyse, le *Clitocybe nebularis.* Quatre exemplaires jeunes sont découpés, pilés dans un mortier et bouillis avec de l'eau. L'extrait aqueux filtré est traité d'abord par l'acide chlorhydrique et l'iodure double de mercure et de potassium, qui produisent un léger trouble blanchâtre; puis, on ajoute un excès d'acide chlorhydrique, qui donne encore un précipité blanc, floconneux, abondant. On filtre. L'acide chlorhydrique et l'iodure ne troublent plus la liqueur. L'addition de deux volumes d'alcool absolu produit un précipité blanc assez abondant, qu'on lave à l'alcool faible, puis à l'alcool absolu. Les réactions suivantes prouvent que la substance ainsi obtenue est du glycogène :

1° La substance se dissout dans l'eau en donnant une solution opalescente, blanchâtre, laiteuse;

2° Cette solution se colore en brun par l'iode, avec la même intensité et la même nuance que le fait une solution de glycogène hépatique du Chien ayant le même degré d'opalescence. Si l'on chauffe simultanément les deux essais additionnés d'une même quantité de solution d'iode, la décoloration à chaud et la réapparition de la couleur après refroidissement se font de la même manière et en même temps pour le glycogène du Chien et celui du *Clitocybe.* En plaçant un thermomètre dans chacun des deux essais, j'ai vu, dans un cas donné, le glycogène de *Clitocybe* commencer à pâlir à 26°-27°, être déjà très pâle vers 35° et complètement décoloré vers 50°; pour le glycogène du Chien, j'ai trouvé dans les mêmes conditions 26°, 35° et 50° environ. Ces chiffres ne représentent pas des constantes caractéristiques, puisque la température de décoloration varie suivant les quantités d'iode et de glycogène en présence [2]; mais je les donne pour montrer que, dans

[1] Cf. *Épipl. des Ascom.*, § III.

[2] [Au sujet de la température de décoloration des solutions de glycogène, voir, plus loin, l'*Étude chimique du glycogène,* de Clautriau. Note ajoutée en 1902.]

les mêmes conditions, le glycogène du *Clitocybe* et celui du Chien se conduisent exactement de même;

3° Traitée par le réactif de Trommer, notre solution dissout en bleu de l'hydrate cuivrique sans le réduire à l'ébullition;

4° Par une ébullition de vingt minutes avec de l'acide sulfurique très étendu, la solution perd la propriété de se colorer par l'iode et acquiert celle de réduire l'oxyde de cuivre;

5° Elle acquiert la même propriété sous l'action de la salive;

6° La quantité de substance qui me restait ne suffisait malheureusement pas pour déterminer le pouvoir rotatoire. Mais j'ai pu m'assurer que la solution aqueuse est dextrogyre.

2. L'un des élèves de notre laboratoire d'anatomie et de physiologie végétales, M. Clautriau, a eu l'obligeance de faire à notre demande la seconde analyse. Elle a porté sur le *Phallus impudicus*. Voici les résultats que M. Clautriau nous a communiqués; comme on le verra, la grande quantité de matière gélatineuse que l'extrait aqueux de *Phallus* renferme a nécessité une légère modification à la marche ordinaire.

« On coupe le Champignon en morceaux et on le laisse dans l'eau pendant un jour. On exprime à travers une mousseline et l'on met à part le résidu (A). Le liquide exprimé est traité par l'acétate basique de plomb et passé de nouveau à travers un linge. A ce liquide, on ajoute la solution qu'on obtient en reprenant par l'eau bouillante à la fois le résidu A et le précipité produit par le plomb; on précipite par l'hydrogène sulfuré tout le plomb qui est encore en solution, on neutralise et l'on concentre au bain-marie. On traite par l'acide chlorhydrique et l'iodure double de mercure et de potassium; on filtre. La liqueur filtrée est additionnée de deux volumes et demi d'alcool absolu : il se forme un précipité blanc qu'on lave et qu'on dissout dans l'eau.

» Cette solution aqueuse est opalescente; elle brunit par l'iode; elle dissout l'hydrate de cuivre du réactif de Trommer sans le réduire à l'ébullition ni précipiter d'oxyde noir; après action de la salive ou ébullition d'un quart d'heure avec de l'acide sulfurique dilué, elle acquiert la propriété de réduire l'oxyde de cuivre à l'état d'oxydule.

» Le *Phallus* contient donc du glycogène. »

§ IV. — Répartition et rôle du glycogène chez les Basidiomycètes.

Il importait avant tout d'établir que le glycogène est extrêmement répandu chez les Basidiomycètes. Ce point me paraissant acquis, nous pouvons aborder l'étude de sa signification physiologique.

Ce que nous savons de ce corps : son analogie avec l'amidon, la facilité avec laquelle il se transforme en sucre, sa manière de se conduire dans le règne animal, tout cela fait supposer *a priori* qu'en dehors de son emploi probable comme combustible respiratoire, il doit jouer aussi, chez les Champignons, l'un des premiers rôles comme matière plastique. J'ai déjà avancé cette opinion il y a deux ans et j'ai cherché alors à la rendre plausible pour les Ascomycètes [1]; les faits qu'il me reste à indiquer me semblent constituer en sa faveur des preuves décisives.

Pour démontrer qu'une substance est employée par l'organisme à l'édification de ses tissus, il n'existe, on le sait, qu'une méthode : elle est longue et fastidieuse, mais c'est la seule. Il faut suivre la substance dans toutes ses migrations, étudier sa distribution aux différents âges, voir où elle s'accumule et où elle disparaît. C'est une marche que nous allons adopter. Et comme la quantité de glycogène varie beaucoup suivant la vigueur, la fraîcheur, etc., des individus que l'on observe, nous aurons soin de ne comparer entre eux pour chaque espèce que des exemplaires robustes et parfaitement frais.

Quoique j'aie indiqué plus haut la répartition du glycogène chez un certain nombre de Basidiomycètes, j'ai réservé pour le présent paragraphe les exemples que je crois le plus propres à nous éclairer sur l'origine et sur le rôle de cette substance. Il est toutefois deux faits que l'on a déjà pu constater. En général, le glycogène est

[1] *Épipl. des Ascom.*, § VIII.

surtout abondant vers la base des Champignons, dans le voisinage du sol. Cela porte à penser que ce corps est l'un des premiers qu'ils forment au moyen des composés de carbone absorbés. Ils doivent, en effet, tirer tous leurs éléments du substratum, et c'est par conséquent près de leur point d'attache que nous trouverons chez eux les premiers produits de leur assimilation. De là, le glycogène pourra ensuite être transporté partout où il est utile, c'est-à-dire partout où il y a croissance de tissu, formation d'organes reproducteurs, etc. De plus, le glycogène, en véritable substance plastique, disparaît ordinairement des tissus à mesure que leur croissance s'achève et que les spores approchent de la maturité : nous l'avons vu, par exemple, pour le *Coprinus evanidus* et le *Crucibulum vulgare.*

J'ai énoncé dès à présent ces deux remarques, afin que le lecteur puisse mieux s'orienter au milieu des observations qui vont suivre.

1. **Agaricus (Clitocybe) nebularis**. — J'ai étudié avec soin la distribution du glycogène chez onze individus à tous les états de développement, et je pense que l'on peut distinguer quatre âges successifs chez le *Clitocybe.*

1° TRÈS JEUNE. Hauteur totale du Champignon : moins de 20mm; diamètre du chapeau : moins de 10mm. — Beaucoup de glycogène dans tout le Champignon, avec prédominance du stipe;

2° JEUNE. Hauteur : 10 à 40mm; diamètre du chapeau : 5 à 20mm. — Beaucoup de glycogène dans le stipe; peu dans le tissu du chapeau; presque pas ou pas dans la trame des lamelles et l'hyménium;

3° DEMI-ADULTE. Hauteur : 35 à 75mm; diamètre du chapeau : 20 à 50mm. — La proportion de glycogène diminue dans le stipe et augmente dans le chapeau; il y en a à peu près autant dans l'un que dans l'autre. On commence à en trouver assez dans les couches hyméniale (jeunes basides) et sous-hyméniale; presque pas dans la trame des lamelles;

4° ADULTE. Hauteur : 50 à 70mm; diamètre du chapeau : 50 à 70mm. — Spores en train de mûrir. — Beaucoup de glycogène

dans le stipe; presque pas dans le chapeau et la trame des lamelles; beaucoup dans les couches hyméniale et sous-hyméniale.

Ces données peuvent, me semble-t-il, s'interpréter de la façon suivante : le glycogène se forme continuellement dans le stipe au moyen des aliments puisés dans le sol. Au premier stade, le chapeau est à peine différencié du stipe. Au deuxième, la croissance du chapeau est lente et il renferme peu de glycogène; mais, au troisième stade, il se met à grandir considérablement; son diamètre, qui ne représente d'abord que la moitié de la hauteur du Champignon, devient égal à celle-ci : en même temps le glycogène afflue vers le chapeau. Enfin, au quatrième stade, le chapeau a consommé son glycogène, sa croissance est achevée; les spores mûrissent et c'est vers l'hyménium que le glycogène se porte d'une manière prépondérante.

2. Agaricus (Armillaria) melleus.

1° Jeune. Hauteur : 50 à 70^{mm}; diamètre du chapeau : 20 à 25^{mm}. — Voile encore fermé. — Beaucoup de glycogène à la base et au milieu du stipe; assez au sommet; point dans le voile; presque pas dans le tissu du chapeau; un peu dans l'hyménium, surtout dans les jeunes basides.

2° Demi-adulte. Hauteur : 80 à 85^{mm}; diamètre du chapeau : 40 à 50^{mm}. — Voile en train de se déchirer. — Glycogène abondant au mileu du stipe, où le tissu est très lâche; moins abondant vers la base et vers le sommet, où le tissu est plus compact. Peu de glycogène dans le chapeau; assez dans les jeunes basides; pas ou presque pas dans les paraphyses;

3° Adulte. Hauteur : 95 à 100^{mm}; diamètre du chapeau 65 à 70^{mm}. — Voile disparu. — Assez de glycogène à la base et au sommet du stipe, beaucoup au mileu, un peu dans le tissu du chapeau; assez dans les basides jeunes; peu dans les basides adultes, sporifères; pas ou presque pas dans les paraphyses.

3. Agaricus (Collybia) velutipes.

1° Demi-adulte. Très peu de glycogène dans le stipe; beaucoup dans le tissu du chapeau; assez dans les couches hyméniale et sous-hyméniale; très peu dans la trame des lamelles;

2° Adulte. Très peu de glycogène dans le stipe, le chapeau et la trame des lamelles; assez dans les couches hyméniale et sous-hyméniale. Parmi les éléments de l'hyménium, les jeunes basides sont surtout riches en glycogène au moment où les spores vont apparaître sur leurs stérigmates.

L'interprétation la plus naturelle de ces faits est, je crois, que le glycogène a été transporté vers le chapeau et l'hyménium plus rapidement qu'il ne se reformait à la base du stipe.

4. **Russula lepida.** — On sait que les Russules et les Lactaires atteignent un plus haut degré de différenciation histologique que la plupart des autres Agaricacées. Sans parler des laticifères propres au second de ces genres, leur tissu se compose partout de deux sortes d'éléments : des filaments minces et ramifiés, réunis en cordons assez épais qui s'anastomosent en tous sens, et un pseudo-parenchyme formé de grandes cellules irrégulièrement arrondies. Les cordons constituent un réseau dont le pseudo-parenchyme remplit toutes les mailles. Cette disposition n'est pas sans rappeler la manière dont les faisceaux fibro-vasculaires traversent en tous sens le parenchyme fondamental des plantes supérieures, par exemple dans la plupart des feuilles, dans la tige des Cactacées ou des Fougères arborescentes, etc. Et de même que les faisceaux fibro-vasculaires des Cactacées (Vöchting) et de beaucoup de feuilles émettent encore des rameaux ténus à l'intérieur des îlots de parenchyme, nous voyons, chez les Champignons qui nous occupent, des ramuscules se détacher des cordons filamenteux, pénétrer dans le pseudo-parenchyme et s'y étendre en se ramifiant irrégulièrement [1].

Il est permis de se demander si cette analogie s'arrête à la structure et si elle ne peut pas jeter quelque lumière sur les fonctions. Le pseudo-parenchyme des Russules et des Lactaires devrait alors être considéré comme le lieu de dépôt et de migration des matériaux hydrocarbonés assimilés, tandis que les cordons fila-

[1] de Bary, *Morph. u. Phys. d. Pilze*, 1866, p. 51.

menteux représenteraient les éléments de soutien du tissu et les routes de transport pour l'eau et les matières protéiques qui se rendent vers les organes en voie de développement. Ce n'est là qu'une hypothèse que des études ultérieures auront à vérifier, mais au moins me paraît-elle probable et elle rend bien compte des observations que je vais rapporter.

Aussi bien chez les individus jeunes que chez les individus développés, on rencontre en général de très grandes quantités de glycogène dans le pseudo-parenchyme et peu dans les filaments. Quant aux diverses régions du Champignon, voici ce qu'elles m'ont présenté chez un exemplaire ADULTE :

Stipe : beaucoup de glycogène dans le pseudo-parenchyme, peu dans les filaments de la région médullaire, presque pas dans ceux de la région corticale.

Chapeau : rien dans la couche superficielle; médiocrement dans le reste du tissu et toujours de préférence dans les cellules arrondies, pseudo-parenchymateuses; beaucoup dans les cellules pseudo-parenchymateuses à contour irrégulier qui forment la trame des lamelles; assez abondamment dans la couche hyméniale.

Mais parfois, dans des conditions que je n'ai pas encore pu déterminer avec exactitude, on trouve une forte proportion de glycogène dans les filaments. Ce glycogène paraît alors y persister, même vers la fin de la végétation, lorsque les îlots de pseudo-parenchyme ont complètement dépensé le leur et ne renferment plus qu'un liquide aqueux [1]. Ce cas ne fait-il pas involontairement songer à ce que Briosi a décrit pour l'amidon des tubes criblés [2]?

5. Lactarius piperatus. — Ce Champignon, riche en glycogène, le présente en général, comme la Russule, à l'intérieur de ses cellules pseudo-parenchymateuses; dans certaines conditions, les cordons filamenteux en contiennent également.

---

[1] C'est un état semblable que de Bary a probablement eu sous les yeux (*loc. cit.*, p. 51).

[2] *Bot. Zeit.*, 1873, p. 343.

La répartition suivante se rapporte à un exemplaire robuste, DEMI-ADULTE, en train de mûrir ses spores :

Le glycogène existe dans tout le stipe, dans le chapeau et dans l'hyménium. Il y en a surtout beaucoup à la base du stipe et dans le voisinage immédiat des lamelles; le sommet du stipe et les parties du chapeau éloignées des lamelles en renferment moins. C'est dans les cellules arrondies, pseudo-parenchymateuses, que le glycogène se trouve de préférence; il manque aux éléments étroits et allongés qui occupent l'axe de chaque lamelle. Le suc laiteux abondant de cette espèce ne donne aucune réaction de glycogène.

Tous ces faits se comprennent sans peine d'après les principes que nous avons exposés.

6. Lycoperdon gemmatum. — Ici encore, les faits parlent d'eux-mêmes et des explications nouvelles sont superflues.

1° TRÈS JEUNE. Hauteur : 20 à 40^{mm}. — Beaucoup de glycogène dans la partie basilaire, au niveau du sol; puis, de moins en moins à mesure qu'on monte vers le sommet du Champignon;

2° DEMI-ADULTE. Hauteur : 95^{mm}. — Un peu de glycogène dans la partie basilaire, stérile; très peu dans le reste du Champignon. Le glycogène se trouve toujours ici dans les éléments de l'hyménium et les filaments à membrane mince, à l'exclusion des fibres à paroi épaisse qui formeront le capillitium. A partir du stade actuel, la paroi de ces fibres se colore en beau violet brunâtre par l'iode, ainsi que la membrane des spores mûres; dans le stade précédent, la paroi des fibres est encore assez mince et ne se colore pas sensiblement. Comme les filaments à membrane mince se détruisent avant la maturité, on trouve aussi une certaine quantité de leur glycogène répandu dans les espaces intercellulaires : il baigne ainsi les fibres et est sans doute utilisé pour leur accroissement;

3° ADULTE. A la maturité, on ne trouve plus de glycogène nulle part.

7. Phallus impudicus. — Peu de Champignons se prêtent mieux que celui-ci à des études physiologiques sur le rôle du glycogène. Grâce à sa grande vitalité, on peut le soumettre à des expériences qui réussiraient difficilement ailleurs.

Ce Champignon est si connu, il a été si souvent décrit et figuré[1] qu'il suffit de rappeler sa structure en quelques mots.

Peu avant la grande élongation de son pédicelle, le *Phallus* constitue un réceptacle sporifère fermé, du volume d'un gros œuf et porté sur un cordon épais du mycélium. On y distingue de dehors en dedans les couches suivantes : une enveloppe résistante, le *péridium externe;* une *couche gélatineuse* épaisse; une seconde enveloppe résistante, le *péridium interne;* une masse verdâtre de *tissu sporifère,* formée de l'hyménium et des spores et limitée en dedans par une membrane solide, qui envoie dans le tissu sporifère des prolongements, les *cloisons alvéolaires;* à sa base, le tissu sporifère est supporté par une *cupule basilaire,* dont le tissu assez dense est continu avec les cordons du mycélium; enfin, au centre, on trouve une colonne creuse de pseudo-parenchyme lacuneux, le *pédicelle,* dont l'axe et les lacunes sont occupés par un amas de filaments déliquescents, gélatineux, destinés à être résorbés.

Nous allons d'abord indiquer la distribution du glycogène dans toutes ces parties, aux différents âges.

1er *Stade.* — Mycélium. Les gros cordons du mycélium présentent du glycogène en quantité modérée, et cela surtout vers leur extrémité.

2e *Stade.* — Réceptacle extrêmement jeune, de 2mm environ de diamètre. A cet âge, les réceptacles, formés encore de tissu homogène, renferment une quantité modérée de glycogène assez uniformément réparti dans tout le tissu.

3e *Stade.* — Réceptacle très jeune, au stade figuré par de Bary (*Morph. u. Phys.*, 1866, p. 84, fig. 34, *u*). Il se différencie une couche gélatineuse campaniforme et une masse sous-jacente de filaments feutrés : celle-ci contient du glycogène, celle-là n'en a pas ou

[1] de Bary, *Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pilze,* I, 1864; Sachs, *Vorlesungen,* p. 519; van Tieghem, *Traité,* p. 1058; — etc.

presque pas. A ce stade, on voit dans les filaments feutrés beaucoup de sphéro-cristaux d'oxalate de chaux, semblables à ceux que de Bary a indiqués chez *Phallus caninus*. Il est à remarquer que chez les Champignons, ainsi que dans le règne animal, cette substance se rencontre souvent aux endroits où il se fait une forte consommation de glycogène.

4° *Stade.* — Réceptacle jeune, de la grosseur d'une noix : diamètre vertical : 32^{mm}; diamètre horizontal : 42^{mm}. Le pédicelle n'est pas encore différencié. Dans les diverses régions, le glycogène présente la répartition suivante :

Cordon mycélien : un peu ;

Cupule basilaire : traces ;

Cloisons alvéolaires : assez abondamment ;

Tissu sporifère : assez abondamment, dans la zone sous-hyméniale ;

Péridium interne, couche gélatineuse et péridium externe : rien.

5° *Stade.* — Réceptacle un peu plus âgé, de la grosseur d'une noix : diamètre vertical : 35^{mm}; diamètre horizontal : 35^{mm}. Le pédicelle se différencie et le glycogène y afflue. Nous avons, en effet :

Cupule basilaire : assez abondamment, surtout dans le voisinage du pédicelle qui la traverse ;

Pédicelle : tissu gélatineux de l'axe et des mailles : rien ; *tissu pseudo-parenchymateux :* beaucoup. Les cellules superficielles de chaque trabécule de ce tissu sont surtout riches en glycogène ; les cellules profondes en contiennent moins. Il y a aussi plus de glycogène dans les trabécules voisines de la cupule basilaire (donc : externes) que dans celles qui avoisinent l'axe gélatineux central (internes) ;

Cloisons alvéolaires : très peu ;

Tissu sporifère : un peu ;

Péridium interne, couche gélatineuse et *péridium externe :* rien.

6° *Stade.* — Réceptacle de la grosseur d'une grosse noix : diamètre vertical : 37^{mm},5 ; diamètre horizontal : 47^{mm},5. Le glyco-

gène continue à affluer vers le pédicelle; il se porte également vers l'hyménium. On en trouve :

Cordon mycélien : un peu;

Cupule basilaire : traces;

Pédicelle : tissu gélatineux : rien; *tissu pseudo-parenchymateux :* assez abondamment;

Cloisons alvéolaires : assez abondamment;

Tissu sporifère : assez abondamment, dans la zone sous-hyméniale;

Péridium interne, couche gélatineuse et *péridium externe :* rien.

7e *Stade.* — Réceptacle de la grosseur d'un œuf, prêt à s'ouvrir. (C'est le stade de la figure de Sachs.)

Cordon mycélien : énormément;

Cupule basilaire : beaucoup;

Pédicelle : tissu gélatineux qui commence à être résorbé : rien; *tissu pseudo-parenchymateux :* énormément;

Cloisons alvéolaires : énormément;

Tissus sporifère : rien dans les spores mûres ou presque mûres;

Péridium interne, couche gélatineuse et *péridium externe* : rien.

8e *Stade.* — Réceptacle ouvert; l'allongement du pédicelle vient de commencer.

Cupule basilaire : peu;

Pédicelle : le *tissu gélatineux* est résorbé; *tissu pseudo-parenchymateux,* beaucoup de glycogène à la base du pédicelle, presque plus au milieu et au sommet;

Cloisons alvéolaires : assez abondamment.

9e *Stade.* — Adulte; l'allongement du pédicelle est terminé, les spores en train de dégoutter. Il ne reste plus qu'un peu de glycogène dans les *cloisons alvéolaires;* il y en a assez abondamment à la base du *pédicelle.* Tout le reste du pédicelle et les trois couches du *péridium* n'en présentent pas.

10e *Stade.* — Adulte; l'allongement est terminé, toutes les spores sont tombées. Il ne reste plus de glycogène dans les cloisons alvéo-

laires; seul le *pédicelle* en offre encore une quantité médiocre à sa base, fort peu au milieu et au sommet.

Jetons un coup d'œil d'ensemble sur cette série d'observations qui, pour être vraiment probante, a dû être donnée tout au long.

Les cordons mycéliens du *Phallus* contiennent du glycogène qu'ils forment au moyen d'éléments puisés dans le sol (1er stade). Le glycogène se porte principalement vers leur extrémité, où va se développer le réceptacle fructifère. Un renflement terminal apparaît : c'est le premier indice visible du réceptacle; aussitôt le glycogène s'y dépose (2e stade). Dans le tissu, d'abord homogène, on voit se différencier une couche gélatineuse, qui ne sera plus le siège d'aucune modification importante, et une masse centrale qui est à l'état embryonnaire; c'est dans cette région embryonnaire, destinée à donner naissance aux organes esssentiels du Champignon, que le glycogène s'amasse. Il est probable qu'en même temps des quantités considérables de glycogène sont consommées et laissent pour déchet de l'acide oxalique, qu'on retrouve dans le tissu à l'état d'oxalate de chaux (3e stade). Le travail de différenciation continue : la cupule basilaire, les cloisons alvéolaires, la région sporifère s'ébauchent (4e stade); puis le pédicelle (5e stade). Toutes ces parties croissent lentement et acquièrent peu à peu leur structure définitive (6e et 7e stades). La teneur en glycogène atteint son maximum. Produit en quantité considérable par le cordon mycélien et charrié par lui, il vient se déposer dans le réceptacle fructifère (7e stade). Mais parmi les organes qui se trouvent là, il en est dont la croissance est finie, dont le rôle est accessoire : ils demeurent privés de glycogène; c'est la couche gélatineuse, les couches externe et interne du péridium, l'axe gélatineux central. Au contraire, le glycogène s'accumule de plus en plus dans le pédicelle et dans les cloisons alvéolaires qui jouent, en quelque sorte, le rôle de placentas vis-à-vis de l'hyménium et des spores; ce glycogène va fournir des matériaux au pédicelle pour sa croissance prochaine et aux spores pour leur germination future. Les derniers stades sont parcourus plus rapidement que ceux qui pré-

cèdent : en quelques heures, le pédicelle triple ou quadruple sa longueur, et il le fait en consommant l'énorme quantité de glycogène dont il était muni, tandis que l'axe gélatineux qui le parcourt et la couche gélatineuse qui l'environne lui fournissent sans doute l'humidité nécessaire (8e et 9e stades). Enfin, les filaments du tissu sporifère se liquiéfient, les spores sont arrivées à complète maturité et elles dégouttent sur le sol (10e stade). Les spores mûres ne renferment plus de glycogène; il est assez vraisemblable qu'il s'y soit transformé en matière huileuse.

Il ne reste plus maintenant du *Phallus* que les enveloppes extérieures déchirées qui n'ont jamais contenu de glycogène; les cloisons alvéolaires qui n'en contiennent plus et le pédicelle qui souvent en présente encore un peu, particulièrement à sa base.

Une conclusion me paraît se dégager avec évidence de cet ensemble de faits : *le glycogène remplit le rôle de matériel de construction, c'est une substance plastique dans toute la force du terme.*

A ce point de vue, le léger résidu de glycogène qui a persisté à la base du pédicelle, après la chute de toutes les spores, constitue une perte pour le Champignon. C'est, si l'on veut, une *dystéléologie.* Mais nous connaissons tant d'exemples analogues qu'il n'y a pas là de quoi nous étonner. J'ai observé, par exemple, un peu d'amidon dans les cellules en palissade des feuilles d'*Aesculus Hippocastanum,* tombées en automne, et l'on sait que la persistance de l'amidon est de règle pour les cellules de bordure des stomates.

Je crois même que l'on peut se rendre compte de la cause immédiate pour laquelle la disparition du glycogène est moins complète à la base du pédicelle. Avant son grand allongement, le pédicelle est assez uniformément rempli de glycogène, et les mesures que j'indiquerai tantôt montrent que la croissance est moindre à la base qu'ailleurs. On pourra donc trouver là un résidu non employé.

Quoi qu'il en soit de ce détail, il est certain que l'allongement du pédicelle épuise en quelques heures sa provision de glycogène. Le fait est aussi frappant que la rapide émigration de l'amidon des

feuilles dont Sachs donnait récemment [1] une si élégante démonstration, et il peut être établi d'une manière analogue. Il suffit de prendre un pédicelle de *Phallus* qui soit sur le point de subir le grand allongement et un autre qui l'ait déjà subi, de les plonger dans l'alcool pour chasser l'air et de les laisser ensuite séjourner ensemble dans une solution d'iode : après quelque temps, celui-là a pris une nuance acajou magnifique, au lieu que celui-ci est seulement coloré en jaune.

L'allongement du pédicelle est le résultat d'une véritable croissance et non point, comme on semble l'avoir admis, le simple effet d'une distension des cellules pseudo-parenchymateuses devenues plus turgescentes. Il n'y a, pour s'en convaincre, qu'à supprimer la turgescence par plasmolyse : le pédicelle se raccourcit alors, mais il est bien loin de se réduire à sa longueur primitive. Exemple : un pédicelle avait immédiatement avant l'allongement 7 centimètres de long; après l'allongement, il en mesure 20; plasmolysé dans une solution de chlorure de sodium à 10 °/₀, il se réduit tout de suite à 16 centimètres, puis peu à peu il descend jusqu'à 14 centimètres. Mais il est impossible de le faire se raccourcir davantage.

Afin de bien établir que la croissance du pédicelle se fait essentiellement aux dépens du glycogène, il importe d'ajouter que, durant l'allongement, le Champignon n'a plus besoin de rien tirer du sol. Si l'on place, en effet, dans une atmosphère humide un exemplaire encore fermé, mais prêt à s'ouvrir, l'allongement s'accomplit d'une manière normale. Il y a mieux, et l'on peut rendre l'expérience plus démonstrative encore. Le pédicelle peut être séparé de tous les autres tissus : dans une atmosphère humide, il s'allonge presque autant que d'habitude, en consommant son glycogène.

L'expérience se réalise sans peine. Au moyen d'une longue épingle, on traverse de part en part, dans sa région moyenne, un pédicelle qui est sur le point de s'allonger. L'épingle est piquée

[1] *Arb. d. bot. Inst. Würzb.*, III, Heft I.

dans une planchette de bois de façon que le pédicelle soit maintenu horizontal, à quelque distance au-dessus de la planchette. On place le tout sur une assiette dans laquelle il y a un peu d'eau et l'on recouvre d'une cloche de verre. Le pédicelle continue à croître horizontalement, sans présenter aucune courbure géotropique ; en prélevant chaque jour de petits lambeaux du tissu, on peut suivre la disparition du glycogène.

Voici, à titre d'exemple, une expérience de ce genre. Le pédicelle enlevé d'un réceptacle encore fermé mesure 60 millimètres. J'y marque avec de l'encre des traits équidistants, de façon à le diviser de la base au sommet en douze parties de 5 millimètres chacune. Je le place dans une atmosphère humide, ainsi que je viens de l'expliquer.

	(base)											(sommet)	
MARQUES :	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 12	TOTAL.
Long. primitives en millimètres. (le 1er décembre 1883)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	60mm
Après 16 heures.	5	6,5	6,5	8	8	7	6,5	6	6	7	5	5,5	77
Après 52 heures.	5,5	7	7	8,5	10	9	10	8	8	10	5,5	6	94,5
Après 69 heures.	5,5	7	7	8,5	10	9	11	8,5	8,3	10,2	5,5	6	96,5
Après 140 heures.	Plus de changement.												

Ou, si l'on réunit les mesures en trois groupes pour mieux saisir la marche de l'allongement :

RÉGIONS DU PÉDICELLE :	TIERS INFÉRIEUR.	TIERS MOYEN.	TIERS SUPÉRIEUR.
Longueur primitive en millimètres.	20	20	20
Après 16 heures	26	27,5	23,5
Après 52 heures	28	37	29,5
Après 69 heures	28	38,5	30

A l'origine, on trouve partout des quantités considérables et sensiblement égales de glycogène. Après l'expérience, le glycogène

a diminué, surtout dans le tiers moyen, où l'on n'en trouve presque plus.

J'ajouterai que, même lorsque la croissance est achevée, ce qui reste de glycogène continue encore à disparaître peu à peu des tissus vivants. Je l'ai constaté chez le *Phallus*, le *Clitocybe nebularis*, le *Russula lepida*. Le fait n'est pas occasionné par des Bactéries. Peut-être faut-il voir là un effet de la combustion respiratoire.

§ V. — Mode de transport du glycogène; mannite, tréhalose, etc. Production d'huile.

Après avoir constaté la grande fréquence du glycogène chez les Basidiomycètes, nous venons de reconnaître qu'il y joue le rôle de substance plastique. Nous l'avons vu prendre son point de départ au voisinage du sol, s'accumuler à l'intérieur ou à proximité des spores et de tous les tissus destinés à un accroissement considérable et disparaître ensuite comme tel, dans la plupart des cas, à mesure que la croissance s'achève et que les spores mûrissent.

Une nouvelle série de questions se posent à présent. Par quel mécanisme est-il transporté d'un point à un autre? Sous quelle forme diffusible chemine-t-il à travers les membranes cellulaires? Sous quelle forme est-il emmagasiné dans les spores?

J'ai institué des recherches pour résoudre ces problèmes, mais je suis loin de les considérer comme terminées. Parmi les premiers résultats obtenus, il en est cependant quelques-uns qu'il me paraît bon d'énoncer dès à présent, afin de déblayer un peu le terrain et de le préparer pour des études plus approfondies.

Semblable en cela aux autres hydrates de carbone dont le poids moléculaire est très élevé, le glycogène forme dans l'eau un empois mince, une *pseudo-solution*, comme on peut l'appeler, mais



non pas une solution véritable. C'est un point sur lequel j'ai insisté antérieurement [1]. Pas plus que son polymère, l'amidon, il ne saurait donc diffuser à travers une membrane cellulaire close.

Les recherches les plus récentes ont établi, il est vrai, que les cellules végétales communiquent entre elles par des fils protoplasmiques ténus, beaucoup plus souvent qu'on ne le pensait jadis. Il est probable que de telles communications peuvent aussi exister chez les Champignons [2], bien qu'on n'en ait pas indiqué jusqu'ici. Mais la croissance exclusivement linéaire des filaments de ces végétaux permet de douter que les perforations se rencontrent ailleurs que sur les parois transversales. Sans nier, par conséquent, la possibilité d'un passage du glycogène à travers ces perforations éventuelles des membranes, il y a lieu d'examiner, d'après tout ce que nous savons aujourd'hui, s'il ne se transporte pas le plus souvent par voie d'osmose, en se changeant en une substance diffusible pour reprendre ensuite la forme de glycogène.

Le glycogène, ainsi que l'amidon, est facilement saccharifiable. La diastase le transforme en sucres qui réduisent l'oxyde de cuivre. On pouvait donc se demander tout d'abord si les Champignons riches en glycogène renferment, comme la plupart des plantes supérieures, des ferments diastatiques et des sucres réducteurs.

Sucres réducteurs. Nous savons par les travaux de Müntz que les sucres réducteurs ne sont pas très répandus chez les Champignons. Il n'indique un sucre de cette catégorie comme abondant que chez le seul *Boletus extensus* [3].

J'ai recherché ces sucres par la voie microchimique (sulfate de cuivre et potasse) chez un certain nombre d'espèces. J'ai opéré de la façon que Sachs a recommandée [4] et je me suis assuré sur du tissu glycosifère que la réaction réussissait facilement.

---

[1] *Épipl. des Ascom.*, p. 70, ou, ci-dessus, p. 62.

[2] Voy., par exemple, la figure de *Dactylium macrosporum* chez de Bary, *Morph. u. Phys. d. Pilze*, 1866, p. 7. (La fréquence de ces perforations chez les Champignons a été, depuis, établie par Strasburger, *Das bot. Practicum.*)

[3] Müntz, *in Boussingault, Agronomie*, etc., t. VI, 1878, p. 216.

[4] *Pringsheim's Jahrbücher*, t. III, p. 187.

En procédant ainsi, je n'ai jamais obtenu de réduction dans aucun tissu ni à aucun âge chez les espèces suivantes qui contiennent du glycogène : *Clitocybe nebularis* (réaction violette de matières protéiques), *Coprinus comatus* (réaction d'un bleu violet), *Russula lepida*, *Boletus edulis*, *Lycoperdon gemmatum*. Je n'en ai pas obtenu non plus chez le *Scleroderma vulgare*, où le glycogène manque dans les conditions ordinaires.

Pour le *Phallus impudicus*, le résultat est différent suivant l'âge. Dans les réceptacles encore fermés, je n'ai obtenu aucune réduction. Mais après l'allongement, on trouve par voie microchimique, dans les cellules pseudo-parenchymateuses du pédicelle, une substance qui réduit l'oxyde de cuivre à l'état d'oxydule jaune, granuleux, opaque. La réduction ne paraît se faire qu'après une demi-minute d'ébullition environ, au lieu qu'elle est immédiate dans les tissus glycosifères. L'extrait aqueux d'un semblable pédicelle réduit légèrement le réactif de Trommer, au lieu que l'extrait alcoolique ne laisse à l'évaporation aucune substance réductrice. Il se peut, d'après ces faits, que la substance réductrice n'existe pas toute formée dans les cellules, mais qu'elle prenne naissance par l'ébullition avec la potasse. Y a-t-il peut-être là un corps analogue au myronate de potassium, ce qui expliquerait en même temps l'odeur nauséabonde que le *Phallus* commence à dégager à ce stade? Des recherches ultérieures décideront.

Diastase. Parmi les Champignons, la diastase a été rencontrée avec certitude chez les Schizomycètes. Kossmann [1] a indiqué chez plusieurs Hyménomycètes des ferments diastatiques qui dédoubleraient en même temps les glycosides et intervertiraient le sucre; mais ce fait est par lui-même assez peu probable, et Baranetzky a élevé des critiques sérieuses au sujet de la méthode employée par Kossmann. Ses expériences n'ont en effet aucune valeur probante, parce qu'il n'a pas tenu compte des Bactéries et des Saccharomycètes qui ont dû se développer dans ses liquides.

Comme je n'avais obtenu de réduction d'oxydule par voie micro-

[1] *Bull. Soc. chimique*, t. XXVII, p. 251, et t. XXVIII, p. 246.

chimique que chez le *Phallus*, c'est chez cette espèce que la présence d'un ferment diastatique était le plus admissible. La grande provision de glycogène que le pédicelle possède et la rapidité avec laquelle il l'utilise engagaient à rechercher le ferment surtout dans cet organe.

J'ai suivi la marche indiquée par Baranetzky[1] et je me suis assuré dans une expérience de contrôle que l'on obtient ainsi, avec des Haricots en germination, un ferment qui fait perdre à l'empois d'amidon son opalescence et sa propriété de bleuir par l'iode et lui fait acquérir celle de réduire l'oxyde de cuivre. Par cette méthode, je n'ai jamais réussi à trouver de ferment diastatique chez le *Phallus*, dans aucun organe ni à aucun stade de développement. L'action saccharifiante des liquides extraits a été vainement essayée, aussi bien sur des solutions de glycogène que sur l'empois d'amidon.

Sans vouloir généraliser trop vite ces résultats, il paraît cependant permis de conclure que la glycose et la diastase sont bien moins répandues chez les Champignons que chez les plantes qui forment de l'amidon.

En revanche, nous connaissons deux matières sucrées qui sont très fréquentes chez les Champignons : la mannite et la tréhalose[2]. La mannite surtout n'y est pas moins générale que le glycogène et elle s'y trouve souvent en quantité considérable. Thörner[3] en a extrait de 19 à 20 °/ₒ de l'*Agaricus integer*.

On peut établir au sujet de ces corps un rapprochement assez remarquable. Si l'on fait abstraction de la cellulose à laquelle ses caractères chimiques et physiologiques méritent une place à part, on sait que l'on divise les hydrates de carbone en trois sections, suivant la grosseur croissante de leur molécule :

1. Glycoses : $C^6H^{12}O^6$. **2. Saccharoses** : $C^{12}H^{22}O^{11}$.
3. Amidons : $n(C^6H^{10}O^5)$.

[1] *Die stärkeumbildenden Fermente*. Leipzig, 1870.
[2] MÜNTZ, *loc. cit.*
[3] *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1879, t. XII, p. 1636.

De chacun de ces groupes, il y a au moins un représentant répandu chez les plantes ordinaires : l'amidon, le sucre de canne, la glycose. Si l'on songe maintenant que la mannite ne diffère de la glycose que par deux atomes d'hydrogène en plus et qu'on l'obtient artificiellement par l'hydrogénation de ce corps, il est clair qu'au point de vue physiologique, nous pouvons la rattacher au groupe des glycoses. Une série parallèle à celle que je viens d'indiquer s'établit alors pour les Champignons : à l'amidon, au sucre de canne et à la glycose correspondent ici le glycogène, la tréhalose et la mannite. De part et d'autre, le premier et le troisième terme sont les plus importants, tandis que le deuxième paraît n'avoir qu'un rôle accessoire.

A cette règle que nous croyons avoir établie : *chez la plupart des Champignons, le glycogène est la forme sous laquelle les hydrates de carbone s'accumulent en un point*, nous sommes ainsi amené à ajouter cette hypothèse : *et la mannite est la forme sous laquelle ils voyagent d'un point à un autre* [1].

Si cette idée venait à se confirmer, elle pourrait éclairer aussi plusieurs points encore obscurs dans la physiologie des échanges nutritifs chez les plantes supérieures.

Il reste à dire un mot des relations physiologiques qui existent entre le glycogène et les huiles grasses. Nägeli a montré, il y a plus de vingt-cinq ans, que chez les $^9/_{10}$ des plantes les graines renferment de l'huile [2]; et Mohl et surtout Sachs ont fait voir que les matériaux pour la production de cette huile sont fournis par l'amidon. On trouve aussi de l'huile dans les spores mûres de beaucoup de Champignons; les observations microchimiques ne permettent guère de douter que cette huile ne se forme ici, en

[1] [Les recherches postérieures de Bourquelot sur les matières sucrées des Champignons, — recherches d'ailleurs intéressantes et qui ont confirmé l'existence très fréquente de la tréhalose et de la mannite chez ces végétaux, — loin de contredire les vues ci-dessus exprimées, comme il semble le croire (*Bull. Soc. mycol. France*, t. X, 1894, p. 135), s'accordent au contraire parfaitement avec elles. Note ajoutée en 1902.]

[2] *Die Stärkekörner*, 1858, p. 536.

général, aux dépens du glycogène. C'est ce que j'ai indiqué avec quelque détail pour les Truffes [1].

§ VI. — Le glycogène est l'amidon des Champignons.

Le glycogène a été recherché par nous chez 46 Basidiomycètes. Nous l'avons trouvé avec certitude chez 31 d'entre eux; sa présence est probable chez 8 des autres; enfin, les 7 restants ne nous ont donné que des résultats négatifs. Ces faits sont récapitulés dans le tableau et dans les listes qui suivent.

Statistique du glycogène chez les Basidiomycètes.

	FAMILLES.	NOMBRE d'espèces étudiées.	PRÉSENCE certaine du glycogène.	PRÉSENCE probable du glycogène.	PAS de réaction de glycogène.
Hyménomycétinées.	Agaricacées	21	17	3	1
	Polyporacées	7	6	»	1
	Hydnacées	2	1	1	»
	Théléphoracées	2	1	»	1
	Clavariacées	2	»	»	2
	Exobasidiacées	1	»	1	»
	Trémellinacées	3	1	2	»
Gastromycétinées.	Hyménogastracées	2	»	»	2
	Lycoperdacées	1	1	»	»
	Nidulariacées	2	1	1	»
	Carpobolacées	1	1	»	»
	Phallacées	2	2	»	»
	Total	46	31	8	7

[1] *Épipl. des Ascom.*, pp. 59 sqq.; ou, ci-dessus, pp. 53 sqq.

I. — Basidiomycètes qui renferment du glycogène.

Agaricus phalloides, melleus, mucidus, nudus, nebularis, laccatus, velutipes, ostreatus, variabilis, campestris, squamosus, fascicularis; *Coprinus* evanidus, comatus; *Lactarius* piperatus; *Russula* lepida, emetica.
Boletus edulis, chrysentereon, subtomentosus; *Polyporus* sulphureus, squamosus, giganteus.
Hydnum imbricatum.
Stereum purpureum.
Tremella mesenterica.
Lycoperdon gemmatum.
Crucibulum vulgare.
Sphaerobolus stellatus.
Phallus impudicus, caninus.

II. — Basidiomycètes qui renferment probablement du glycogène.

Agaricus terreus, aeruginosus; *Lenzites* betulina.
Irpex obliquus.
Exobasidium Vaccinii.
Tremella albida, torta.
Cyathus striatus.

III. — Basidiomycètes chez lesquels le glycogène n'a pas pu être démontré jusqu'à présent.

Agaricus galericulatus.
Polyporus fumosus.
Stereum hirsutum.
Clavaria rugosa, stricta.
Scleroderma vulgare; *Rhizopogon* luteolus.

Je pense que chez la plupart des Champignons de notre liste III, on parviendrait, après une recherche prolongée, à découvrir de petites quantités de glycogène, si le résultat valait la peine qu'on devrait se donner. Chez quelques espèces, la recherche demeurerait peut-être infructueuse, par exemple chez le *Scleroderma*, dont j'ai examiné beaucoup d'exemplaires à tous les âges, sans jamais y déceler de glycogène.

Chez les plantes ordinaires [1], les espèces pauvres en amidon sont souvent riches en huile. La même chose s'observe chez les Champignons pour les espèces pauvres en glycogène. C'est ainsi qu'il y a beaucoup d'huile chez l'*Agaricus galericulatus*, le *Clavaria rugosa*, le *Stereum purpureum*, etc.

D'autres, au contraire, présentent des quantités très considérables de glycogène et se prêtent par là à l'étude de ce corps. Je recommanderai à ce point de vue les espèces suivantes à ceux qui voudraient vérifier les principaux faits que j'indique : *Agaricus* (*Clitocybe*) *nebularis*, *Coprinus comatus*, *Russula lepida*, *Phallus impudicus*.

A plusieurs reprises dans le cours de ce travail, j'ai essayé d'appeler l'attention sur le parallélisme qui s'observe entre la manière d'être du glycogène chez les Champignons et celle de l'amidon chez les plantes ordinaires. Ce parallélisme est si complet et si instructif qu'il mérite, à mon sens, d'être mis encore une fois en relief.

1. *L'amidon et le glycogène sont isomères ou polymères entre eux.* Le glycogène ne forme dans l'eau qu'une pseudo-solution, ce qui lui permet, comme à l'amidon, de s'accumuler presque indéfiniment dans les cellules.

2. *L'amidon est l'une des substances les plus répandues chez les plantes ordinaires ; parfois, cependant, il n'apparaît qu'à titre exceptionnel* (feuilles de Strelitzia et Musa); *d'autres fois, il semble manquer tout à fait* (Monotropa Hypopitys).

Le glycogène est l'une des substances les plus répandues chez les Champignons ; parfois, cependant, il n'apparaît qu'à titre exceptionnel (Claudopus variabilis); *d'autres fois, il semble manquer tout à fait* (Scleroderma vulgare).

---

[1] J'ai constamment employé cette expression dans le cours de ce travail, à défaut d'une autre meilleure, pour désigner l'ensemble des végétaux moins les Myxomycètes, les Champignons, [les Phéophycées] et les Floridées ; c'est-à-dire toutes les plantes qui, sauf de rares exceptions, produisent de l'amidon.

3. Le carbone des plantes ordinaires a sa source dans l'atmosphère; la première étape de leurs hydrocarbonés doit donc se trouver dans l'organe par lequel elles sont en rapport avec l'atmosphère : la feuille.

Le carbone des Champignons a sa source dans le sol ou, plus généralement, dans le substrat; la première étape de leurs hydrocarbonés doit donc se trouver dans l'organe par lequel ils sont en rapport avec le substrat : le mycélium et, chez les Hyménomycètes typiques, la base, souvent bulbeuse, du stipe.

La feuille représente en quelque sorte le réservoir d'où l'amidon se rend dans tout le corps de la plante [1], et si ce réservoir ne tarit pas tant que dure la croissance, c'est qu'il y a là une production constante d'amidon par les grains de chlorophylle, aux dépens de l'acide carbonique de l'atmosphère.

La base du stipe ou tout autre organe d'attache représente en quelque sorte le réservoir d'où le glycogène se rend dans tout le corps du Champignon, et si ce réservoir ne tarit pas tant que dure la croissance, c'est qu'apparemment il y a là une production constante de glycogène par le protoplasme aux dépens des matières organiques du substrat.

Il semble donc que le glycogène soit, comme l'amidon, le premier produit visible et bien défini de l'assimilation.

Sachs et quelques auteurs après lui voudraient réserver le mot « assimilation » pour désigner la formation primaire de substance organique dans les grains de chlorophylle. Je n'ai pas adopté cette terminologie, qui a pour premier inconvénient de heurter les usages, en rayant l'assimilation de la physiologie animale. Cette innovation tendrait de plus à établir une barrière trop absolue entre des phénomènes de même ordre. Sans doute, le rôle du grain de chlorophylle est unique dans la nature, mais, à tout prendre, il n'y a qu'une différence de degré entre la synthèse de l'amidon au moyen de l'acide carbonique et la synthèse de la mannite ou du glycogène, par exemple, au moyen de l'acide tartrique.

[1] Sachs, *Pringsheim's Jahrb.*, t. III, 1863, p. 209.

4. *Lorsque les tissus sont différenciés, l'amidon se dépose de préférence dans les cellules du parenchyme*[1].

Lorsque les tissus sont différenciés, le glycogène se dépose de préférence dans les cellules du pseudo-parenchyme (Russula, Lactarius, Phallus).

5. *L'amidon est presque toujours absent des points végétatifs, mais il apparaît dans les jeunes cellules aussitôt que leur allongement commence, pour en disparaître à mesure que l'allongement s'accomplit. On en peut conclure que l'amidon fournit à ces cellules les matériaux nécessaires à leur croissance*[2].

Le glycogène est (presque complètement) absent des points végétatifs, mais il apparaît dans les jeunes cellules quand leur allongement commence, pour en disparaître à mesure que l'allongement s'accomplit. On en peut conclure que le glycogène fournit à ces cellules les matériaux nécessaires à leur croissance. — Nous avons noté ce fait plus haut chez le *Polyporus giganteus;* il est très frappant aussi, en dehors des Basidiomycètes, chez beaucoup de formes filamenteuses à croissance apicale marquée (*Botrytis cinerea*, *Sporodinia grandis*, etc.).

Voici, par exemple, ce qu'on constate chez le Botrytis : le point végétatif ne renferme pas trace de glycogène et se colore en jaune citron par l'iode ; puis de cellule en cellule, à partir de la cellule terminale, on voit augmenter la quantité de glycogène ; elle atteint son maximum de la cinquième à la dixième cellule à partir de la pointe, pour diminuer de nouveau dans les parties plus âgées. Quant à la disparition du glycogène à mesure que l'allongement a lieu, nous en avons fourni assez de preuves à propos du *Phallus*.

6. *Beaucoup de graines renferment de l'huile qui s'est formée aux dépens de l'amidon.*

Beaucoup de spores renferment de l'huile qui s'est formée aux dépens du glycogène (voy. plus haut fin du § V).

7. *L'amidon manque aux poils adultes et aux cellules à paroi*

[1] SACHS, *loc. cit.*, p. 242, *g*.
[2] SACHS, *loc. cit.*, pp. 207-208, 241, et *Vorlesungen*, p. 433.

épaissie, mais on en trouve souvent dans le voisinage de ces dernières[1].

Le glycogène manque aux paraphyses et aux cystides adultes. On le trouve toujours de préférence dans les éléments à paroi mince, tandis qu'il est plus ou moins complètement absent des éléments épaissis; mais on en trouve souvent dans le voisinage de ces derniers. — C'est ainsi que le glycogène est toujours peu abondant chez les espèces ligneuses et coriaces (Lenzites, Irpex, Stereum, Scleroderma, Rhizopogon, Cyathus, etc.). Nous avons vu, en outre, chez le Lycoperdon, que le glycogène se dépose dans les filaments à membrane mince à l'exclusion des fibres épaissies du capillitium; mais, grâce à la destruction des filaments, ces fibres finissent par être baignées de glycogène.

[1] Sachs, *loc. cit.*, pp. 241, 243.

SUR

L'EXISTENCE DU GLYCOGÈNE DANS LA LEVURE DE BIÈRE

PAR

L. ERRERA *.

Le glycogène, découvert par Claude Bernard dans le foie des Mammifères, a été peu à peu retrouvé dans toute la série animale. Des recherches récentes [1] nous ont démontré que cette substance existe aussi chez un très grand nombre de Champignons, et qu'elle y remplit un rôle en tout semblable à celui de l'amidon dans la plupart des autres végétaux. Le glycogène n'est donc pas un composé propre au Règne animal, comme on était porté à le croire.

Pour établir ces faits, nous avons surtout eu recours à la *méthode microchimique,* c'est-à-dire à l'étude des caractères et des réactions qui permettent de reconnaître le glycogène sous le microscope et d'en déterminer exactement la répartition dans les diverses cellules des tissus. Chaque fois que l'on observe dans une cellule une masse semi-fluide, blanchâtre, réfringente, opalescente, facilement soluble dans l'eau du porte-objet quand on écrase la préparation, et prenant par l'iode une coloration brun-rouge, qui se dissipe vers 50°-60° pour reparaître par le refroidissement, on doit conclure, selon nous, à la présence du glycogène. Cette conclusion,

---

* Cette note a paru dans les *Comptes rendus* de l'Académie des sciences de Paris, 20 juillet 1885.

[1] *L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux* (Thèse d'agrégation); Bruxelles, 1882. — *Sur le glycogène chez les Mucorinées* (BULL. ACAD. ROY. BELG., 3e série, t. IV, p. 451; 1882). — *Sur le glycogène chez les Basidiomycètes* (MÉM. ACAD. ROY. BELG.; in-8°, t. XXXVII, 1885). [Ces trois Mémoires sont réimprimés dans le présent volume du *Recueil.*]

tour à tour critiquée à l'Académie de Belgique[1] par M. Morren et appuyée par MM. Stas et Gilkinet, nous semble parfaitement légitime, car :

1° On ne connaît, en dehors du glycogène, aucune substance qui présente cet ensemble de caractères;

2° En traitant, par les procédés ordinaires de l'analyse chimique, les Champignons chez lesquels on observe ces caractères, on arrive à isoler une substance douée de *toutes* les propriétés du glycogène hépatique. C'est ce dont nous nous sommes assuré pour les Champignons suivants, qui appartiennent à des familles très diverses : *Peziza vesiculosa*, *Tuber melanosporum*, *Tuber æstivum*, *Phycomyces nitens*, *Clitocybe nebularis*, *Phallus impudicus*.

Parmi les Champignons dont la chimie offre le plus d'intérêt, il faut compter la Levure de bière (*Saccharomyces cerevisiæ*). Bien que M. Nägeli[2] eût émis l'avis que le contenu cellulaire de la Levure ne renferme pas d'hydrates de carbone en quantité appréciable, nous y avions, dès nos premières études, recherché le glycogène, et, sans arriver d'emblée à un résultat définitif, nous étions cependant conduit à penser « que la Levure renferme du glycogène typique, » en quantité variable, sans doute d'après l'état de nutrition des » individus[3] ».

Les nouvelles observations que nous avons faites dans ces derniers temps, et dont nous avons l'honneur de communiquer ici le résultat à l'Académie, nous permettent de confirmer cette conclusion d'une manière positive[4].

Dans une culture vigoureuse de Levure de bière, telle qu'on en obtient si l'on sème un peu de Levure fraîche dans une solution

---

[1] *Bulletin*, 3e sér., t. VIII, n° 12, 1884.

[2] *Sitzungsberichte der math.-phys. Classe der k. bayr. Akad. der Wissenschaften*, t. VIII, p. 166; 1878.

[3] *Épiplasme des Ascomycètes*, pp. 33-34; ou, ci-dessus, p. 30.

[4] [Cette conclusion a été, comme on sait, confirmée ultérieurement de plusieurs côtés. On trouvera des figures de cellules de Levure, les unes riches, les autres pauvres en glycogène, dans les *Planches de Physiologie végétale*, par Errera et Laurent, 1897, pl. V. Note ajoutée en 1902.]

sucrée additionnée de phosphates de potasse et de chaux, de sulfate de magnésie et de tartrate d'ammoniaque (liquide de Cohn) et portée à 30° environ, on remarque bientôt que les cellules ne se colorent plus toutes uniformément en jaune par l'iode, comme elles le font d'ordinaire dans la Levure primitive. Plus la culture est vigoureuse, plus on trouve de cellules de Levure que l'iode colore en brun-rouge. Avec quelque attention, il est facile de constater que ces cellules donnent très nettement toutes les réactions indiquées plus haut pour le glycogène : la teinte brune disparaît à chaud et reparaît à froid ; si l'on écrase les cellules, on voit la substance brune se dissoudre dans l'eau qui les entoure ; en opérant sur un petit amas de cellules de Levure, comme il s'en forme toujours dans les préparations, on s'assure même qu'à l'endroit précis où l'on a écrasé les cellules colorées par l'iode, le liquide prend une nuance brun-rouge qui, elle aussi, disparaît par la chaleur et revient par le refroidissement. Après l'écrasement et la dissolution du glycogène, les restes des cellules de Levure se colorent seulement en jaune par l'iode, à la manière des substances albuminoïdes. Dans beaucoup de cellules de Levure, le glycogène forme un amas semi-lunaire, réfringent, comme on l'observe souvent dans le Règne animal ; d'autres fois, le glycogène est si abondant qu'il remplit toute la cellule.

On peut déduire avec certitude de tous ces faits que la Levure de bière est capable de fabriquer et d'emmagasiner du glycogène, par un véritable travail de synthèse, au moyen des tartrates et des matières sucrées que l'on met à sa disposition. Ce glycogène représente pour elle une réserve hydrocarbonée, qu'elle consommera plus tard pour sa croissance, sa multiplication, sa respiration, etc., exactement comme les plantes supérieures utilisent l'amidon.

Plusieurs observations anciennes, complètement obscures jusqu'à présent, s'expliquent sans peine par cette faculté que la Levure possède de former du glycogène lorsqu'elle est bien nourrie. C'est ce que j'ai déjà indiqué dans ma Thèse d'agrégation [1], et je

[1] Page 29; ou, ci-dessus, p. 25.

me contenterai ici de rappeler les observations de M. Pasteur et celles de MM. Schützenberger et Destrem.

M. Pasteur [1] a constaté qu'une Levure bien nourrie donne beaucoup de sucre par l'ébullition avec l'acide sulfurique étendu; et les deux autres savants déduisent de leurs analyses que, lorsque la Levure vit dans l'eau distillée, ce qui l'oblige évidemment à consommer ses réserves nutritives, elle détruit dans sa propre substance « une matière hydrocarbonée qui, au contraire, reste ou est remplacée pendant la fermentation [2] ».

Comme on le reconnaîtra sans qu'il soit nécessaire d'y insister, ces faits remarquables n'acquièrent toute leur signification que par la découverte du glycogène, et ils trouvent ainsi l'explication la plus naturelle.

---

[1] *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 640.
[2] *Ibid.*, t. LXXXVIII, p. 289.

LES

RÉSERVES HYDROCARBONÉES DES CHAMPIGNONS

PAR

L. ERRERA [1].

On sait depuis longtemps que les matériaux de réserve ternaires se présentent dans les plantes supérieures sous deux formes très différentes : hydrates de carbone et corps gras. C'est ainsi que l'on connaît des graines oléagineuses et des graines amylacées, des tubercules oléagineux (*Cyperus esculentus*) à côté des tubercules à amidon (Pomme de terre) ou à inuline (*Dahlia*). Il existe certaines graines chez lesquelles la réserve affecte encore une troisième forme : celle de couches de cellulose qui sont digérées et absorbées peu à peu par l'embryon pendant la germination.

Jusqu'à présent, on s'était à peine occupé de l'étude des matières de réserve des Champignons. Mais, depuis la découverte du glycogène chez ces végétaux, il y avait lieu de se demander si cette substance, isomère de l'amidon, remplit aussi les fonctions de l'amidon dans leurs dépôts nutritifs.

Les gros réservoirs alimentaires des Champignons connus sous le nom de *sclérotes* conviennent fort bien lorsqu'il s'agit d'étudier la nature chimique des substances de réserve. Cette étude, à laquelle je me suis livré, m'a conduit au résultat remarquable et nouveau qu'il existe un parallélisme complet entre les réserves nutritives des Champignons et celles des autres plantes. De même qu'il y a des graines à huile, des graines à amidon et des graines

---

[1] Cette note a paru dans les *Comptes rendus* de l'Académie des sciences de Paris, 3 août 1885.

à cellulose, nous trouvons chez les sclérotes, comme réserve prédominante, tantôt de l'huile (par exemple : *Claviceps purpurea*), tantôt du glycogène (par exemple : *Coprinus niveus*, *Peziza sclerotiorum*), tantôt des couches d'épaississement de la membrane (par exemple : le *Pachyma Cocos*, sclérote problématique que l'on trouve en Chine). Chez plusieurs sclérotes, la réserve semble consister à la fois en glycogène et en couches d'épaississement absorbables ; c'est ce que j'ai surtout pu observer dans des corps sclérotioïdes magnifiques, découverts il y a plusieurs années aux environs de Bruxelles par M. le professeur Bommer. D'après une obligeante communication de M. le Dr Cooke, de Londres, ces masses fongiques se rapprochent du *Sclerotium stipitatum* (Tchou-Ling des Chinois). Leur tissu est formé de deux éléments : petites cellules arrondies à paroi mince et longues fibres à paroi tellement épaisse que la cavité cellulaire n'existe pour ainsi dire plus. Les cellules sont remplies de glycogène, tandis que les fibres n'en renferment pas trace [1]. Il ne serait pas difficile, du reste, d'indiquer parmi les graines phanérogamiques des cas analogues où l'on trouve en même temps de l'amidon et d'épaisses couches de cellulose.

Pendant la germination des sclérotes glycogénifères, on voit le glycogène diminuer dans le sclérote et s'accumuler de plus en plus dans le jeune Champignon. Si l'on cultive, par exemple, des sclérotes du *Coprinus niveus* sur du sable humide, on voit au bout de quelque temps se développer les jeunes Coprins, dont le stipe, le chapeau et les lamelles présentent beaucoup de glycogène : ce glycogène ne saurait évidemment provenir que du tissu du sclérote, et il doit y avoir là une véritable *migration du glycogène*, comparable à la migration de l'amidon chez les plantes supérieures.

Les sclérotes oléagineux nous ont donné des résultats particulièrement intéressants. M. Sachs a montré, il y a déjà plus de

---

[1] [Ces sclérotes appartiennent au *Polyporus umbellatus* Fr., comme il a été établi plus tard. Voir notamment Ch. Bommer, *Sclérotes et cordons mycéliens*, mém. in-4° Acad. roy. Belg., t. LIV, 1894, ou t. III du présent *Recueil*. Note ajoutée en 1902.]

vingt-cinq ans[1], que, dans la germination des graines oléagineuses, l'huile est toujours partiellement ou complètement transformée en amidon avant d'être utilisée par la jeune plante : il se forme, comme on dit, de l'amidon transitoire. Le même fait se retrouve exactement pour les sclérotes oléagineux : j'ai pu y constater pendant la germination une formation temporaire de glycogène, qui mérite à tous égards le nom de *glycogène transitoire*. Dans l'ergot de Seigle, par exemple (sclérote du *Claviceps purpurea*), on voit disparaître l'huile des cellules du sclérote à la base de chacun des *Claviceps* qui s'y développent. Cette huile est d'abord remplacée dans ces mêmes cellules par du glycogène, qui disparaît à son tour. On retrouve alors un dépôt de glycogène dans le tissu des jeunes *Claviceps*, notamment aux points où se formeront plus tard les organes de fructification : il existe un amas spécial de glycogène dans les cellules qui occupent la région centrale du ventre de chaque futur périthèce. Enfin, à la complète maturité des spores, ce glycogène-là a aussi disparu.

Tous ces détails rappellent absolument la germination de beaucoup de graines oléagineuses, par exemple du Ricin ou du Melon.

J'ajouterai que le glycogène transitoire se retrouve dans la germination des spores de divers Champignons. Comme je l'ai déjà décrit antérieurement[2], beaucoup de ces spores renferment, à la maturité, de l'huile qui s'est formée aux dépens du glycogène. Pendant la germination, l'huile disparaît et l'on voit se déposer du glycogène transitoire dans les tubes germinatifs. C'est ce qu'il est facile d'observer chez les Mucorinées.

Un parallélisme inattendu existe ainsi, au point de vue de la chimie physiologique, entre la germination des Champignons et celle des végétaux supérieurs.

---

[1] *Ueber das Auftreten der Stärke bei der Keimung ölhaltiger Samen*. (Botan. Zeitung, 1859.)

[2] *Épiplasme des Ascomycètes*, pp. 59 et suiv. ; ou, ci-dessus, p. 53 ; — *Glycogène chez les Basidiomycètes*, 2e éd., p. 58 ; ou, ci-dessus, p. 117.

UEBER DEN NACHWEIS DES GLYKOGENS BEI PILZEN,

von L. Errera.

[Cette note, parue dans le *Botanische Zeitung*, 7 mai 1886, n° 18, pp. 316-320, répond à quelques critiques que Julius Wortmann avait publiées dans le même journal, n° 11. On y insiste notamment sur les caractères que présentent, à l'examen microscopique et microchimique, les amas de glycogène chez les Champignons :

Ils siègent toujours *dans la cellule* (et non dans la membrane);

ils sont blanchâtres, amorphes, réfringents;

ils se colorent en rouge-brun par l'iode; cette teinte disparaît à chaud et reparaît par le refroidissement;

si l'on écrase la préparation, la substance colorée par l'iode se dissout dans l'eau.

L'ensemble de ces propriétés ne se retrouve, dans l'état actuel de nos connaissances, chez *aucun autre corps que le glycogène*, alors que la réduction de l'oxyde de cuivre, par exemple, si souvent employée pour localiser microchimiquement la glycose, appartient à une foule de corps divers.

On montre aussi que les recherches les plus récentes ne font qu'accentuer le parallélisme entre le glycogène des Champignons et l'amidon des plantes ordinaires : ces deux substances sont *physiologiquement homologues*.

L. E.]

ANHÄUFUNG UND VERBRAUCH VON GLYKOGEN BEI PILZEN,

von L. Errera.

[Cette communication, faite au Congrès des Naturalistes et Médecins allemands, à Wiesbaden, le 21 septembre 1887, a paru dans le *Tageblatt* du Congrès, pour cette date, pp. 89-90, et, avec addition d'une note complémentaire, dans les *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, Generalversammlungsheft* de 1887, p. LXXIV.

En présentant à l'assemblée des préparations où l'on voit, à l'œil nu, la grande différence dans la réaction par l'iode entre le pédicelle de *Phallus impudicus* avant et après l'allongement, entre une culture affamée et une culture bien nourrie de

Saccharomyces Cerevisiae, l'auteur résume les résultats qu'il a obtenus jusqu'ici au sujet du glycogène chez les Champignons et conclut ainsi :

« De même que chez les animaux, le glycogène remplace complètement chez les Champignons l'amidon des plantes ordinaires. L'amidon provient, il est vrai, de l'anhydride carbonique, tandis que le glycogène des Champignons, pour autant que nous sachions, dérive toujours de composés carbonés organiques, en particulier de produits de décomposition d'autres êtres vivants. Mais cette différence même n'est pas aussi profonde qu'on pourrait le croire tout d'abord, puisque l'anhydride carbonique, utilisé par la cellule verte, provient lui-même, pour la grande part, de la décomposition respiratoire des organismes. Et la formation du glycogène au moyen de sucre ou de glycérine n'est-elle pas un processus synthétique, au même titre, bien qu'à un moindre degré, que la production de l'amidon dans les végétaux verts ? »

La note ajoutée dans les *Berichte,* p. LXXVII, fait ensuite connaître la réaction rouge-brun par l'iode, obtenue chez diverses Nostocacées (*Oscillaria, Anabaena, Nostoc*). « Cette coloration disparaît à chaud et revient par le refroidissement. Elle a son siège en partie dans la gaine mucilagineuse, en partie indubitablement dans le contenu cellulaire. »

Enfin, l'auteur énonce quelques remarques au sujet d'un travail récent de Zopf (*Ber. bot. Ges.*, 1887, p. 275) sur un prétendu hydrate de carbone, la « fibrosine », dans les spores de *Podosphaera.*

L. E.]

UEBER GLYKOGENBILDUNG DER HEFE, von E. Laurent (*Berichte der deutschen bot. Gesellschaft, Generalversammlungsheft*, 1887, pp. LXXVII-LXXVIII).

SUR LES ALIMENTS ORGANIQUES DE LA LEVURE DE BIÈRE, par E. Laurent (*Bull. Soc. roy. bot. de Belgique*, t. XXVII, 2e partie, p. 127, Compte rendu de la séance du 6 mai 1888).

NUTRITION HYDROCARBONÉE ET FORMATION DE GLYCOGÈNE CHEZ LA LEVURE DE BIÈRE, par E. Laurent (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, 1889, p. 113).

[Ces trois notes renferment un exposé sommaire des résultats qui sont publiés en détail dans le mémoire reproduit ci-après.]

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR LES LEVURES

PAR

E. LAURENT

Professeur à l'Institut agricole de l'État à Gembloux [1].

CHAPITRE PREMIER.

HISTORIQUE.

Peu d'organismes ont été étudiés d'une manière aussi complète que la Levure de bière. Dans le règne végétal, on ne pourrait citer que l'*Aspergillus niger* et le *Phycomyces nitens* dont la physiologie ait été l'objet de travaux aussi étendus et aussi variés.

L'étude physiologique de la Levure n'est cependant pas très ancienne. Bien que ce microbe eût été observé au microscope par Leeuwenhoeck et par divers savants de la première moitié de ce siècle, son rôle dans la fermentation alcoolique resta longtemps ignoré.

C'est M. Pasteur qui inaugura les recherches méthodiques sur la Levure. Grâce à cet expérimentateur de génie, la fermentation alcoolique est devenue l'un des phénomènes les mieux connus de la physiologie.

Pour réfuter les idées de Liebig sur le mécanisme de la fermentation, M. Pasteur démontra que le sucre n'est pas transformé en

---

[1] Ce mémoire a paru dans les *Annales de la Société belge de Microscopie* (*Mémoires*), 1890, t. XIV, p. 31. Nous le reproduisons ici intégralement, sauf le chapitre VIII, relatif à l'action comparée des nitrates et des sels ammoniacaux sur la Levure, qui est réservé pour le tome II du présent *Recueil*. C'est pourquoi le chapitre VII est immédiatement suivi ici du chapitre IX.



alcool dans un liquide exempt de matière minérale, où l'on n'introduit qu'une très petite quantité de levure. La voie était ainsi toute tracée pour les recherches expérimentales sur les microbes.

M. Pasteur faisait ses cultures dans une solution formée exclusivement de cendres de Levure, de sucre et de tartrate d'ammoniaque. M. A. Mayer [1] fut le premier à y substituer un mélange complètement artificiel, dont la composition était basée sur l'analyse chimique de la Levure de bière.

D'après les résultats de cette analyse faite par différents chimistes, on peut admettre les chiffres suivants pour la composition moyenne de la Levure de bière.

La levure en pâte employée par les boulangers renferme en moyenne :

Pour 100 parties . . . { 70 parties d'eau. / 30 parties de substance sèche.

Dans les 30 parties de substance sèche, il y a { 28 parties combustibles { 14 de carbone. / 9 d'oxygène. / 3 d'azote. / 2 d'hydrogène. } / 2 parties de cendres. }

On a trouvé dans les cendres (M. Belohoubek) :

Potasse	0,774
Soude	0,036
Chaux	0,040
Magnésie	0,0832
Oxyde de fer	0,0012
Protoxyde de manganèse	traces
Acide silicique	0,032
Acide phosphorique	1,022
Acide sulfurique	0,011
Chlore	0,0006
	2,000

[1] A. MAYER, *Untersuchungen über die alkoholische Gährung*, in LANDWIRTSCH. VERSUCHSST., 1869, Bd XIV.

Voici le mélange nutritif de M. Mayer :

Eau	1,000	c. c.
Sucre candi	150	grammes.
Phosphate acide de potassium	5	»
Sulfate de magnésium	0,5	»
Phosphate tricalcique.	0,5	»

L'azote était fourni sous forme d'un sel ammoniacal ou d'une matière organique azotée et soluble.

Dans les mélanges qui renferment du sucre et les matières salines que je viens d'indiquer, la Levure donne des végétations assez vigoureuses et une fermentation alcoolique énergique.

Ces résultats prouvent que, en dehors des éléments nutritifs fournis par le sucre, l'air et l'eau, six corps suffisent à la nutrition de la Levure ; ce sont : l'azote, le soufre, le phosphore, le potassium, le magnésium et le calcium. Comme je le ferai remarquer plus loin, il semble que le calcium ne soit pas indispensable.

Des expériences de même ordre, poursuivies sur les plantes supérieures, ont prouvé que les mêmes corps et en outre le fer sont nécessaires à l'existence de ces végétaux.

La Levure emprunte sa matière minérale à des substances salines solubles ou non; dans ce dernier cas, il faut qu'elle puisse les dissoudre au moyen d'acides sécrétés par ses cellules.

L'origine de l'azote de ce microbe est plus complexe Beaucoup de plantes assimilent l'azote, l'état nitrique; d'autres, à l'état ammoniacal; beaucoup d'espèces inférieures l'utilisent sous ces deux états. La Levure préfère aux nitrates les sels ammoniacaux et certaines matières organiques azotées. Nos connaissances sur ce sujet, dues à M. A. Mayer et à M. Nägeli, ne sont pas à l'abri de toute critique, car les cultures sur lesquelles elles sont fondées n'étaient pas pures. Les résultats obtenus sans cette condition sont sujets à caution, qu'il s'agisse de nutrition azotée ou hydrocarbonée, ou même, jusqu'à un certain point, de nutrition minérale. Aussi, je me suis proposé de reprendre l'étude de ces questions avec des cultures pures comme point de départ.

Pour résumer les anciens travaux, on peut admettre que de

toutes les matières azotées de nature organique, les plus favorables aux Levures sont celles qui se trouvent à l'état soluble dans le jus des fruits et dans le moût de bière. Par leurs propriétés, elles semblent se rapprocher des peptones et des amides. En même temps que les Levures se nourrissent de ces substances, elles font une consommation considérable de sels ammoniacaux, ce qui a été mis en évidence par les recherches de M. Duclaux [1].

Quant à l'aliment hydrocarboné, les Levures, comme presque tous les êtres privés de chlorophylle, l'empruntent à une source organique. Distinguons de prime abord les corps qui peuvent entretenir la vie des Levures et en permettre la croissance et les corps qui subissent la fermentation alcoolique. Ces derniers sont les mieux connus à cause de la facilité avec laquelle on peut les reconnaître. Dans l'examen de la question actuelle, il convient de considérer cette propriété comme toute différente de celle de fournir aux cellules vivantes du carbone alimentaire. En effet, la fermentation alcoolique est en rapport immédiat avec les phénomènes de la respiration. On pourrait même se représenter une substance incapable de servir à la nutrition et subissant dans l'organisme un dédoublement analogue à celui qui s'accomplit dans la fermentation alcoolique.

Les sucres sont assurément les matières hydrocarbonées que préfèrent les Levures. Tous ne peuvent servir à la production d'alcool et sont loin d'avoir la même valeur nutritive. On sait aussi, depuis les travaux de Dubrunfaut (1832), que la saccharose n'est pas directement assimilable par la Levure; elle doit auparavant être transformée en glycose. C'est le meilleur exemple que l'on puisse invoquer en faveur de la nécessité de distinguer, pour un aliment quelconque, son pouvoir de diffusion et son pouvoir d'assimilation.

Les sucres directement fermentescibles aujourd'hui connus sont : la maltose, la dextrose, la lévulose, la raffinose, la mannitose, la méthose (Lœw), la mannose (E. Fischer) et, dans des conditions déterminées, la galactose.

[1] Thèse. Paris, 1862.

J'omets à dessein deux sucres en $C^{12}H^{22}O^{11}$, la tréhalose et la mélézitose, que l'on considère généralement comme fermentescibles après interversion par la Levure. J'estime que ce point, pour être définitivement établi, exigerait des constatations nouvelles et plus rigoureuses.

Le cas de la galactose mérite une mention toute spéciale. D'après M. Bourquelot [1], la galactose pure ne fermente pas en présence de Levure de bière; mais elle subit la fermentation alcoolique lorsqu'on ajoute de la glycose, même en proportion très minime. Dans ces conditions, le microbe acquiert graduellement la propriété de dédoubler en alcool et acide carbonique le sucre primitivement rebelle à ses efforts. M. Bourquelot, non sans raison, compare ce fait à cet autre bien connu dans les questions d'alimentation animale : un aliment facilement digestif provoque la digestion d'un aliment qui ne serait pas utilisé s'il était seul, et auquel il est ajouté en proportion suffisante.

L'opinion de M. Bourquelot a été contestée par MM. Stones et Tollens [2]. D'après ceux-ci, la fermentation de la galactose serait plus lente que celle de la dextrose; néanmoins elle pourrait se faire complètement sans l'intervention d'un autre sucre. Cette divergence dans les résultats est sans doute le fait de l'emploi de races de Levures différentes ou de Levures inégalement privées de germes étrangers.

Le pouvoir fermentescible de la raffinose paraît dépendre de conditions analogues. D'après M. Berthelot [3], ce sucre fermente en totalité sous l'influence d'une bonne levure de bière, tandis que la fermentation est partielle lorsqu'on fait usage d'une levure affaiblie telle qu'on en trouve chez les boulangers. Il n'y aurait alors qu'un tiers du sucre qui subirait la fermentation.

Une découverte importante a été révélée par les études de

---

[1] Ém. Bourquelot, *Recherches sur la fermentation alcoolique de la galactose.* (Comptes rendus de la Société de Biologie de Paris, 1887, p. 698.)

[2] *Liebig's Annalen der Chemie*, Bd CCIL, et *Moniteur scientifique de Quesneville*, 4e série, t. III, p. 674.

[3] *Comptes rendus*, octobre 1889.

M. Grimaux [1] sur l'aldéhyde glycérique ($C^3H^6O^3$). Ce corps, obtenu par l'oxydation de la glycérine, présente toutes les propriétés caractéristiques de la glycose et peut, comme ce sucre, subir la fermentation alcoolique sous l'influence de la Levure.

A côté de ces substances qui peuvent donner lieu à la production d'alcool, il faut citer toute une catégorie de corps que M. Nägeli [2] et d'autres observateurs ont signalés comme capables de nourrir la Levure sans permettre la fermentation. Ce sont : la mannite, la glycérine, l'amygdaline, la salicine, l'asparagine, la dextrine et l'albumine du sang. L'addition de tartrate d'ammoniaque dans le mélange adopté par M. Pasteur a fait supposer l'assimilation de l'acide tartrique, sans que des faits précis en aient prouvé la réalité.

Aux résultats des recherches de M. Nägeli sur l'alimentation hydrocarbonée de la Levure avec des substances autres que les sucres, on peut faire le grave reproche d'avoir été basés sur des cultures impures. A l'époque où ils furent obtenus, on ne connaissait pas encore de moyen très pratique d'isoler une seule cellule de Levure et d'en assurer la descendance à l'abri des bactéries. Ces microbes, mieux adaptés à la digestion rapide des matières organiques diverses, peuvent bien souvent favoriser le développement d'organismes moins bien doués. En voici un exemple. Des formes-levures fréquentes sur des débris végétaux ne peuvent que difficilement se nourrir d'amidon, faute de produire suffisamment de diastase. En symbiose avec les bactéries vulgaires, elles parviennent à bourgeonner d'une manière assez active.

Le reproche que je viens de signaler peut, sans aucun doute, être adressé à presque tous les anciens travaux sur la nutrition des êtres inférieurs.

Il y a cependant un grand intérêt pour la chimie biologique à ce que l'on soit exactement renseigné sur les capacités synthétiques des êtres vivants, ainsi que sur le pouvoir nutritif des corps de

[1] E. Grimaux, *Comptes rendus*, 1887, t. IV, p. 1276.

[2] C. Nägeli, *Ernährung der niederen Pilze durch Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen*, in Untersuchungen über niedere Pilze, 1882, S. 1.

nature organique. Les expériences faites sur les animaux ne donnent pas toujours des résultats à l'abri de toute critique, à cause de la complication des phénomènes de digestion. Les plantes supérieures ne conviennent pas mieux à ces études par suite de la difficulté de les maintenir à l'abri des microbes. Par contre, ceux-ci se prêtent à merveille à ces études par la facilité avec laquelle on parvient, pour beaucoup d'entre eux, à obtenir des cultures pures. Enfin, par leur organisation très simple, les êtres inférieurs se plient aisément aux variations dans la nature de l'aliment.

Les recherches entreprises dans cette voie ne sont pas encore très nombreuses. Elles se confondent avec celles qui ont pour but de déterminer les substances que les êtres vivants peuvent transformer en réserve hydrocarbonée, de nature amylacée ou glycogénique. Telles sont les expériences de M. Böhm[1] avec des fragments de haricots déposés sur des dissolutions de glycose et de saccharose, de M. A. Meyer[2] et de M. Laurent[3] sur la formation d'amidon au dépens de solutions de sucres, de glycérine, de mannite et de dulcite.

Les renseignements relatifs à la nutrition hydrocarbonée des organismes inférieurs sont plus nombreux. J'ai déjà cité les anciens travaux relatifs à la Levure de bière. Dès 1858, M. Pasteur avait remarqué que l'acide tartrique est assimilé par le *Penicillium glaucum*. Il réussit, quelques années plus tard, à cultiver cette moisissure dans des solutions minérales additionnées de sucre candi[4].

M. Jodin[5] a cultivé la même espèce en lui donnant, comme

---

[1] *Berichte der deutsch. chemisch. Gesellschaft*, 1887, S. 1804, et *Botan. Zeitung*, 1883, SS. 33 et 49.

[2] *Bot. Zeitung*, 1886, S. 81.

[3] *Id.* 1886, p. 151, *Recherches sur la formation de l'amidon dans les plantes supérieures aux dépens de solutions organiques*. (Bulletin de la Société royale de Botanique, 1887, t. XXVI, et Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. II.)

[4] *Annales de Physique et de Chimie*, 1862, t. LXIV, p. 100.

[5] *Comptes rendus*, 1865, t. LXI, p. 1179.

source de carbone, la glycérine ou les acides tartrique, succinique, lactique, acétique et oxalique.

Il a vu des solutions de formiates se peupler de myçéliums, qui, sans doute, appartenaient à la même espèce. Toutefois, il fait remarquer qu'il ne peut pas affirmer s'il y a eu assimilation ou simplement oxydation extraorganique de l'acide formique. J'estime qu'il aurait dû faire la même remarque pour l'acide oxalique. On doit à M. Nägeli [1] un grand nombre d'observations sur l'alimentation des moisissures, au moyen de substances très variées, dont il a essayé de déterminer la valeur nutritive comparée. D'après ce botaniste, un très petit nombre de corps organiques solubles dans l'eau, entre autres les acides formique et oxalique, ne peuvent fournir du carbone aux organismes inférieurs. Certes, les résultats indiqués par M. Nägeli sont intéressants; mais il faut regretter qu'ils ne s'appliquent pas à des espèces déterminées observées dans des cultures pures.

L'*Aspergillus niger*, si bien étudié par M. Raulin, était tout indiqué pour des recherches sur la valeur alimentaire des diverses substances organiques. M. Duclaux [2] entreprit ce travail et constata que si la saccharose et la glycose conviennent admirablement à cette moisissure, la lactose et la mannite sont peu favorables aux tissus jeunes, au développement de myçéliums issus de spores, bien qu'ils puissent servir d'aliment d'entretien au même champignon arrivé à l'âge adulte. La plante refuse de croître lorsqu'on la nourrit avec de l'alcool, de l'acide acétique ou de l'acide butyrique. A l'état adulte, elle peut cependant les brûler avec production intérimaire d'acide oxalique. Enfin, dans les solutions de glycérine, des acide tartrique, citrique ou lactique, le champignon végète avec peine.

M. Duclaux a aussi attiré l'attention sur ce fait que l'*Aspergillus* refuse de croître avec 15 °/₀ d'acide acétique, 1 °/₀ d'acide butyrique, tandis qu'il supporte et consomme 12 à 15 °/₀ d'acide tartrique.

---

1 *Untersuchungen über niedere Pilze.* München, 1882.

2 *Compte rendu de la Société de Biologie de Paris,* 1885, p. 91.

Pour une même espèce, il convient donc de distinguer des aliments de construction et des aliments d'entretien, et pour un même aliment des doses utiles et des doses nuisibles.

Dans deux notes préliminaires [1], j'ai indiqué sommairement les résultats auxquels j'étais parvenu par la culture de la Levure de bière dans des solutions organiques.

Récemment, M. Massart [2] a annoncé que le *Polytoma Uvella*, un Flagellate sans chlorophylle, peut former des réserves amylacées aux dépens de diverses matières organiques et entre autres de la glycérine, du tartrate d'ammoniaque, de l'acétate de potassium, du butyrate de calcium, du benzoate de sodium et de la phloridzine.

A côté de ces travaux sur la nutrition des êtres inférieurs privés de chlorophylle, nous possédons quelques renseignements sur l'alimentation des Algues plongées dans des solutions hydrocarbonées. Nous les devons à M. Klebs [3] et à MM. Lœw et Bokorny [4]. Le résultat le plus important est l'assimilation de l'aldéhyde méthylique, signalé par M. Bokorny.

Dans mes études sur la nutrition de la Levure, je me suis attaché à distinguer, aussi nettement que possible, les corps facteurs de glycogène et ceux qui permettent seulement à la Levure d'édifier de la matière vivante, sans former de réserve hydrocarbonée visible au microscope.

Les recherches de M. L. Errera [5] ont démontré que dans le

---

[1] *Sur les aliments organiques de la Levure de bière* (Bull. de la Société botanique de Belgique, t. XXVII, 1888, p. 127), et *Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez la Levure de bière* (Annales de l'Institut Pasteur, 1889, l, III, p. 113).

[2] *Archives de Biologie*, t. IX, p. 549, 1889, et *Recueil de l'Inst. bot. de Bruxelles*, t. IV.

[3] *Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft*, 1888, et *Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle*, SS. 537 und folg.

[4] O. Lœw und Bokorny, *Journal für praktische Chemie*, 1887, S. 272, et Bokorny, *Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft*, 1888, S. 116.

[5] L. Errera, *L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux*. Thèse. Bruxelles, 1888. — *Le glycogène chez les Basidiomycètes*. (Mémoires de l'Acad. roy. de Belgique, coll. in-8°, t. XXXVII, 1885.) — Ces mémoires sont réimprimés ci-dessus.

monde des Champignons, le glycogène joue le rôle de réserve hydrocarbonée. Au point de vue physiologique, il correspond à son isomère l'amidon des plantes supérieures, dont il ne diffère d'ailleurs que d'une manière peu profonde. La formation du glycogène chez les Champignons doit donc se faire dans des conditions identiques à celle de la fécule chez les plantes vertes. C'est ce qui ressort des observations de M. Errera sur l'apparition et la disparition du glycogène dans les filaments mycéliens et les appareils sporifères des Champignons.

Il existe plusieurs substances hydrocarbonées qui, chez les êtres inférieurs, jouissent de certaines propriétés du glycogène animal et particulièrement de la coloration rouge au contact de l'iode. Mais je ne puis partager l'opinion de M. Van Tieghem [1], qui assimile les réserves hydrocarbonées des Champignons à l'amylodextrine. Assurément, entre cette dernière substance et le glycogène animal, a différence n'est pas bien grande. En fait de réactions qui permettent de les distinguer, il n'y a guère que la réduction du réactif de Trommer par presque toutes les amylodextrines; le glycogène n'a pas ce pouvoir réducteur. Le glycogène donne des solutions opalescentes, facilement précipitées par l'alcool (environ deux volumes); il ne présente jamais des formes cristallines. Au contraire, les solutions d'amylodextrines sont rarement opalescentes, précipitent plus difficilement avec l'alcool et présentent des formes cristallines. Ces différences avaient déjà été signalées par M. Errera dans sa thèse (p. 66).

Enfin, il faut convenir que le terme amylodextrine n'est pas des mieux définis dans le langage chimique, tandis que le glycogène a des propriétés bien connues.

L'existence d'une réserve hydrocarbonée chez la Levure a été signalée pour la première fois par M. Pasteur [2]. Ce savant avait

---

[1] Van Tieghem, *Éléments de Botanique*, 1888, t. II, p. 10.

[2] Pasteur, *Mémoire sur la fermentation alcoolique.* (Ann. de chimie et de phys., 1860, 3e série, t. LVIII, p. 323, et Comptes rendus, t. XLVIII, 1859, p. 640.)

constaté que de la levure de bière ajoutée à de l'eau sucrée augmente non seulement de poids, mais que la quantité de substance hydrocarbonée s'élève dans une proportion très sensible. Pour M. Pasteur, c'était du sucre qui s'était transformé en cellulose. Aujourd'hui, nous comprenons mieux ce phénomène : il y avait eu production de glycogène. Plus tard, M. Béchamp [1] retira de la Levure une matière gommeuse, qui fut étudiée par MM. Nägeli et Lœw [2]. D'après M. Nägeli, ce mucilage proviendrait de la membrane.

De ces premiers travaux sur l'existence d'une réserve hydrocarbonée chez la Levure, il faut rapprocher cette ancienne observation, vérifiée par M. Pasteur et par M. Béchamp [3], que de la levure de bière délayée dans l'eau pure et abandonnée à elle-même dégage de l'acide carbonique. En outre, il se forme, dans le liquide, de l'alcool dont la proportion augmente de jour en jour. Pour M. Béchamp, cet alcool provenait des matériaux qui forment les tissus des cellules.

Les expériences de MM. Schützenberger et Destrem [4] ont permis d'interpréter cette production d'alcool en apparence inexplicable. Elles ont démontré que lorsque la Levure vit dans l'eau distillée, elle subit une perte de poids qui porte surtout sur le carbone. Cet organisme à l'état d'autophagie doit donc détruire une matière hydrocarbonée, qui, au contraire, reste ou est remplacée dans les conditions ordinaires de la fermentation.

Après avoir discuté la nature de cette réserve, M. Errera [5] arrive à cette conclusion qu'il doit exister dans le protoplasme de la Levure quelque hydrate de carbone assez facile à saccharifier.

---

[1] *Comptes rendus,* 1872, t. LXXIV, p. 187.

[2] *Sitzungsb. d. k. bayr. Akad. d. Wiss.,* 1878, Bd VIII, S. 166.

[3] *Comptes rendus,* 1864, t. LVIII, p. 601.

[4] *Comptes rendus,* 1874, t. LXXVIII, p. 493, et *Bull. de la Soc. chim. de Paris,* t. XXI, p. 204.

[5] L. Errera, *L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux,* 1882. Thèse, p. 28, ou, ci-dessus, p. 26.

L'examen microchimique avait permis à cet observateur d'affirmer que les levures de brasseries renferment 5 à 6 °/₀ de cellules qui prennent une coloration rouge-brun acajou, comme le fait le glycogène.

Des tentatives d'extraction de cette substance ne donnèrent pas de résultats bien précis : les réactions ne concordaient pas complètement avec celles du glycogène animal.

Néanmoins, des travaux de ses devanciers et de ses propres analyses, M. Errera concluait dès 1882 que la Levure renferme du glycogène typique [1].

Trois années plus tard, le même auteur a confirmé ce fait en se fondant sur la culture de la Levure dans une solution minérale additionnée de sucre et portée à 30° environ [2].

CHAPITRE II.

MÉTHODES DE CULTURE.

Dans les travaux de microbie, il importe d'accorder la plus grande attention aux méthodes de culture, car certains détails, qui semblent tout à fait accessoires, ont une influence décisive sur la valeur des résultats et des conclusions. C'est ce qui me décide à consacrer tout un chapitre à la description des méthodes que j'ai adoptées dans la suite de ces recherches.

Solution minérale. — Tout au début, je devais faire choix d'un mélange de sels minéraux nécessaires à la croissance de la Levure, afin d'y ajouter une à une les substances organiques à soumettre à l'essai. J'avais commencé par l'emploi du mélange de M. Mayer (voir page 137), mais je fus bientôt amené à le modifier. En effet, il renferme un sel insoluble, le phosphate tricalcique, dont le dépôt

[1] *Loc. cit.*, p. 34, ou, ci-dessus, p. 30.
[2] *Comptes rendus*, 1885, t. CI, p. 253, ou, ci-dessus, p. 127.

au fond des vases de culture ne permet pas d'apprécier d'une façon facile et sûre le développement de la Levure. Substituer au phosphate un sel soluble de calcium ne présentait aucun avantage, car par suite d'une double décomposition entre ce sel et le phosphate de potassium, il y avait formation d'un précipité de phosphate tricalcique. Je me suis alors décidé à tenter la suppression du calcium. Un essai de culture comparative fut fait sur une assez grande échelle (1 litre) dans le mélange de Mayer avec chaux et sans chaux.

Tous les sels avaient été purifiés par cristallisations successives; le sucre employé (saccharose) était le plus pur que l'on rencontre dans le commerce.

Dans de telles conditions, le poids de levure récoltée dans la solution sans chaux ne fut pas sensiblement inférieur à celui du mélange avec chaux. Ce résultat ne signifie pas d'une manière absolue que la Levure n'a pas besoin de calcium, car elle pourrait en trouver des quantités infimes, mais suffisantes, dans le mélange nutritif; de plus, le verre des matras de culture peut, sans doute, abandonner à l'eau des traces de sels calcaires.

Pour trancher la question, il faudrait opérer dans des bocaux en or ou en porcelaine, comme l'a fait M. Raulin, et continuer les cultures pendant plusieurs générations, afin d'avoir une semence de plus en plus pauvre en matière calcaire.

J'aurais voulu employer pour mes cultures une solution qui fût pour la Levure ce que le liquide Raulin est pour l'*Aspergillus niger*. Malheureusement, pour atteindre un pareil résultat, il faut des essais extrêmement nombreux. J'ai dû me résigner à l'emploi d'un liquide choisi par un procédé moins parfait. J'avais constaté que la Levure avait une véritable prédilection pour le phosphate de potassium et le phosphate d'ammoniaque. Le sulfate de magnésium est indispensable pour fournir le soufre et le magnésium. Toutes les fois que le sel ammoniacal ne devait pas être employé concurremment avec un nitrate, j'ai préféré le phosphate; sinon je l'ai remplacé par le sulfate, qui donne aussi des résultats très satisfaisants.

Pour déterminer la proportion de chacun des sels nutritifs à ajouter à la solution destinée à la Levure, je me suis fondé sur la richesse de ce microbe en azote, soufre, potassium et magnésium. J'ai adopté par litre 50 grammes de saccharose et comme rendement nutritif $^{1}/_{5}$, ce qui donne un poids théorique de 10 grammes de levure. Après avoir calculé les quantités qui dans ce poids correspondent aux quatre corps indiqués, j'ai pu déterminer les doses minima à employer en phosphates d'ammoniaque et de potassium, ainsi qu'en sulfate de magnésium.

Les voici :

Eau	1,000	c. c.
Sucre	500	grammes.
Phosphate de potassium	0,75	»
Phosphate ou sulfate d'ammoniaque	5,00	»
Sulfate de magnésium	0,1	»
Acide tartrique	1,00	»

Cet acide favorise le développement de la Levure et nuit, à l'occasion, à la multiplication des bactéries.

La solution indiquée, sans acide et légèrement alcalinisée, convient aussi à la culture des bactéries; dans ce cas, elle peut sans inconvénient être étendue de quatre fois son volume d'eau.

CULTURE. — L'existence du glycogène dans la Levure peut être constatée dans les moûts de bière en fermentation. Il suffit de faire l'examen microscopique du dépôt au moment opportun, ni trop tôt ni trop tard. Si l'observation est prématurée, le glycogène est très rare, parce que l'accroissement est encore trop actif pour permettre l'accumulation d'une réserve hydrocarbonée. Plus tard, dans les moûts qui ne sont pas très riches en sucre, la réserve s'épuise dans les derniers temps de la fermentation.

Lorsque, dans les laboratoires, on fait fermenter un liquide sucré avec une semence peu abondante, il se passe quatre ou cinq jours avant que la réserve de glycogène apparaisse dans les cellules. Il faut beaucoup moins de temps lorsqu'on plonge des quantités plus grandes de levure dans un liquide très nutritif. J'ai vu, dans

un essai fait avec 10 grammes de levure pressée, ajoutés à 1 litre de liquide de touraillons contenant 12 °/o de saccharose, la plupart des cellules se colorer en rouge-brun, au bout de cinq heures, à 28°.

Cependant, pour des essais méthodiques, il ne convient pas d'employer une aussi forte proportion de levure, afin d'éviter les phénomènes d'autophagie. Mieux vaut ne prendre qu'un très petit nombre de cellules comme semence afin d'apprécier la croissance avec certitude. La prudence exige même de laisser la semence épuiser ses réserves par un séjour suffisant dans des solutions peu nutritives.

Dans le but d'éviter les causes d'erreur que n'auraient pas manqué de provoquer des organismes étrangers, je n'ai jamais fait usage que de levure pure obtenue par culture sur lame de gélatine. La race qui fut particulièrement étudiée est celle qu'on emploie en Belgique pour faire les bières à fermentation haute. Elle présente, de la manière la plus nette, les caractères des levures hautes. J'ai aussi essayé un assez grand nombre d'autres races (Levures de bières de Strasbourg, de Carlsberg, de Marseille, de pale ale, etc., levures de vin de Champagne, etc.). Les résultats n'ont pas été sensiblement différents.

Dans les liquides nutritifs artificiels, la production de glycogène n'est pas toujours facile à apprécier. Si la croissance est rapide, on ne peut souvent y parvenir qu'au prix d'observations répétées. Dans les solutions moins favorables, il est fréquemment très difficile d'affirmer l'existence de la réserve chez la Levure. Je compris que la méthode de culture dans les liquides était insuffisante et je me mis à la recherche d'un procédé plus parfait.

A plusieurs reprises, j'avais constaté que les mycéliums des moisissures vulgaires (*Penicillium glaucum, Botrytis*, etc.), cultivées sur moût de bière gélatinisé, sont des plus favorables à l'observation du glycogène. Au contraire, dans les solutions nourricières, ces mycéliums ne donnent que bien rarement les réactions de cette substance.

J'essayai ces réactions avec les colonies de la Levure cultivée sur moût de bière gélatinisé. A ma grande satisfaction, ces colonies

prenaient avec l'iode une coloration d'un rouge foncé presque noir. Écrasées sous le microscope, elles montraient des cellules bourrées de glycogène.

Cette abondance de réserve s'explique aisément si l'on réfléchit que, sur gélatine, l'accroissement de la Levure est contrarié par la consistance solide du milieu.

A partir du moment où j'avais fait ces observations, j'adoptai, pour mes essais sur le glycogène, les cultures en solutions et celles sur gélatine.

Toutes les variétés de gélatine ne conviennent pas à ces recherches, car elles ne sont pas également alimentaires pour la Levure. Il faut faire choix d'une qualité qui permette la formation de très petites colonies dépourvues de glycogène et presque toujours légèrement rameuses à la surface.

Cultivé sur de la gélatine ainsi choisie, le *Phycomyces nitens* ne produit que de très courts filaments sporangifères, des sporanges très petits et ne renferme que des traces de glycogène. Avec certaines gélatines, probablement moins pures, on obtient des colonies de Levure assez étendues et des filaments de *Phycomyces* avec dépôts de glycogène assez abondants. Il faut les rejeter.

La gélatine pure renferme assez de matières minérales pour le développement des colonies de Levure; néanmoins, j'ai préféré la dissoudre dans le liquide minéral que j'ai indiqué à la page 148.

Une proportion de 7.5 °/₀ de gélatine suffit lorsque la température ambiante ne dépasse pas 20°. Après filtration, le mélange était réparti par 5 centimètres cubes dans les tubes à essais auxquels j'ajoutais la substance à mettre en expérience. Le tout était stérilisé à la vapeur à 100° ou à 120° et ensemencé, après refroidissement, avec une très petite quantité de cellules de Levure puisées au moyen d'un fil de platine.

Ceux qui ont fait des cultures de Bactéries sur gélatine connaissent la longueur des manipulations lorsqu'on se sert des lames de verre, telles que M. R. Koch en a recommandé l'emploi. Depuis longtemps, j'ai substitué à ce procédé la culture sur verres de montre plats, de 50 à 55 millimètres de diamètre, renfermés dans

des godets en porcelaine disposés en piles de cinq ou six et emboîtés les uns dans les autres; au sommet, un couvercle termine chaque série. Sous chaque verre de montre un morceau de papier à filtrer assez épais et humecté avec un peu d'eau empêche la dessiccation de la gélatine. Ces godets ont l'avantage de tenir peu de place, de bien préserver les cultures contre les germes en suspension dans l'air, enfin, d'être très faciles à manier et à stériliser. Il suffit de les soumettre à l'autoclave à 120° pendant dix minutes, ou, à défaut de cet appareil, au bain de vapeur à 100° durant un quart d'heure et à trois reprises.

La remarque que j'ai signalée tantôt au sujet de l'assimilation de la gélatine par la Levure m'a permis d'étendre le cadre primitif de mes études. Par l'examen des cultures sur ce milieu, je pouvais apprécier :

1° Si le corps présenté à la Levure lui est nuisible. Dans ce cas, il n'y a aucun développement, ou bien les colonies restent toutes petites, formées de quelques cellules.

2° Lorsque la substance est sans action, ni utile ni nuisible pour la Levure, les colonies présentent le même aspect que sur la gélatine pure.

3° Le corps peut être assimilé par la Levure, mais sans qu'il y ait production de glycogène; alors les colonies grandissent lentement, conservent l'aspect rayonné, parfois même tendent à devenir filamenteuses sur leur pourtour: l'iode les colore en jaune pâle.

4° Enfin, lorsque l'aliment est assez favorable pour permettre la formation d'une réserve de glycogène, l'iode communique aux colonies une teinte rouge plus ou moins foncée. On peut répéter sur ces colonies les expériences de décoloration à froid; l'écrasement sous la lamelle montre la substance de réserve répandue dans l'eau qui entoure les colonies et les colore en rouge-brun.

L'examen des colonies ne suffit pas à affirmer la présence du glycogène dans la Levure cultivée sur gélatine. Il arrive parfois que des colonies se colorent en rouge par l'iode, sans que cet hydrate de carbone soit bien visible dans les cellules. Le cas m'a



paru très rare pour la Levure de bière; je l'ai observé plus souvent dans la culture sur gélatine de la forme-levure de *Cladosporium herbarum* et aussi dans celle de Bactéries vulgaires. Pour la forme-levure précitée, il semble que ce soient surtout les membranes qui brunissent sous l'influence de l'iode. Chez les Bactéries, l'action de ce corps se porte sur une substance gélatineuse qui enveloppe les éléments cellulaires. Je n'oserais affirmer que, dans ces deux cas, les matières colorées par l'iode jouent le rôle de réserve alimentaire. Je suis porté à le croire, car la réaction ne se fait plus avec les colonies à accroissement rapide.

L'examen microscopique des cellules est donc tout à fait nécessaire pour vérifier les résultats positifs constatés par l'observation des colonies. Lorsque la quantité de glycogène n'est pas considérable, il faut parfois plusieurs essais et beaucoup de temps avant d'arriver à une opinion certaine sur la présence ou l'absence de glycogène.

Aussi longtemps que je me suis adressé pour mes essais aux sucres et aux substances très nutritives, la méthode que je viens de décrire donnait des résultats très nets. Il n'en a plus été ainsi pour les corps moins favorables au développement de la Levure, avec lesquels la croissance des colonies était très lente dans les solutions diluées additionnées de gélatine. Lorsque, dans l'intention de leur offrir un aliment plus riche, j'en augmentais la concentration, la végétation du microbe se ressentait du pouvoir osmotique exercé par la substance dissoute. Plusieurs fois, j'ai constaté que des solutions trop peu concentrées pour nuire par elles-mêmes devenaient nuisibles lorsque je les mélangeais à la gélatine. Il y avait alors superposition du pouvoir osmotique du sel et du pouvoir d'imbibition de la gélatine, qui, pour la proportion de 7,5 à 10 %, est vraiment considérable.

Afin d'obvier à ce défaut des essais sur gélatine, j'ai dû, pour les matières peu nutritives, me fonder exclusivement sur les cultures en solutions aqueuses dans des tubes à essais ou dans des matras Pasteur. J'avais toujours soin de n'employer que des quantités de liquides très faibles, car une couche trop épaisse aurait diminué

l'aération de la Levure. Comme je le supposais *a priori*, je ne devais pas rencontrer, en dehors des sucres, de corps favorables à la vie anaérobie.

Dans bien des cas, la croissance de la Levure est misérable et le dépôt qu'elle donne, très minime; mais il y a croissance, et c'est le point essentiel à observer.

Il est prudent d'attendre un temps assez long avant de jeter les essais. Ainsi à la température ordinaire, des solutions de sels d'acides gras peu favorables et certains alcaloïdes ont fini, après trois mois, par donner un dépôt de levure très notable. Il n'est pas douteux que la Levure s'habitue de mieux en mieux à ces substances, qui semblent lui répugner dans les premiers moments.

Avant de discuter les résultats constatés dans la suite de ces recherches, je les réunis en un tableau indiquant la formule chimique des substances étudiées. On pourra ainsi facilement en comparer la valeur alimentaire.

Une dernière remarque est relative à la concentration des solutions nutritives : elle a presque toujours été très faible, contrairement à l'habitude suivie par M. A. Meyer et par moi dans nos études sur la formation d'amidon chez les plantes supérieures. Des solutions plus concentrées auraient pu être nuisibles, sans avantage pour la marche des expériences. La Levure donne, en effet, un dépôt assez notable dans des solutions nourricières diluées, aux dépens desquelles la production d'amidon par les plantes à feuilles serait très difficile.



CHAP

RÉSULTAT

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.
Alcool méthylique	CH^3OH
— éthylique	C^2H^5OH
— propylique	C^3H^7OH
— butylique	C^4H^9OH
Aldéhyde acétique	C^2H^4O
Paraldéhyde	$(C^2H^4O)^3$
Éther éthylique	$O<^{C^2H^5}_{C^2H^5}$
— acétique	C^2H^3O,OC^2H^5
Acide formique	CH^4O^2
Formiate d'ammoniaque	CHO^2AzH^4
— de sodium	CHO^2Na
— de potassium	CHO^4K
— de calcium	$(CHO^2)^2Ca$
Acide acétique	$C^2H^4O^2$
Acétate d'ammoniaque	$C^2H^3O^2AzH^4$
— de sodium	$C^2H^3O^2Na$
— de potassium	$C^2H^3O^2K$
Acide propionique	$C^3H^6O^2$
Propionate de potassium	$C^3H^5O^2K$
Acide butyrique	$C^4H^8O^2$
Butyrate de sodium	$C^4H^7O^2Na$
— de potassium	$C^4H^7O^2K$
Acide valérianique	$C^5H^{10}O^2$
Valérianate de potassium	$C^5H^9O^2K$
Stéarate de potassium	$C^{18}H^{35}O^2K$
Oléate de potassium	$C^{18}H^{32}O^2K$
Alcool allylique	C^3H^5OH
Glycol éthylénique	$C^2H^4(OH)^2$
Acide glycolique	$<^{CH^2OH}_{CO\ OH}$
Glycolate de potassium	$C^2H^3O^3K$
Acide lactique	$C^3H^6O^3$
Lactate d'ammoniaque	$C^3H^5O^3AzH^4$
— de sodium	$C^3H^5O^3Na$
— de potassium	$C^3H^5O^3K$
— de calcium	$(C^3H^5O^3)^2Ca$
Lactophosphate de calcium	
Acide oxalique	$C^2H^2O^4$

TRE III.

BTENUS.

Concentration.	CULTURE SUR GÉLATINE. Résultats.	Concentration.	CULTURE EN SOLUTIONS. Résultats.
2 °/o	Pas nuisible, mais non assimilé.	2 et 4 °/o	Non assimilé.
»	»	»	»
»	Nuisible.	2 °/o	»
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»
—	—	»	»
—	—	—	—
—	—	»	»
1 °/o	Nuisible.	»	»
»	Pas nuisible	1 °/o	»
»	»	»	»
—	—	»	»
—	—	»	»
»	Nuisible.	»	»
2 °/o	»	»	Assimilé sans glycogène.
»	»	»	»
»	»	»	»
1 °/o	»	»	Non assimilé.
»	Pas nuisible, non assimilé.	»	»
»	Nuisible.	»	»
—	—	»	»
—	—	»	»
»	Nuisible.	»	»
—	—	»	»
—	—	1 °/o	»
—	—	»	»
—	—	»	»
—	—	»	Assimilation faible sans glycogène.
—	—	»	»
—	—	»	»
—	—	—	—
1 °/o	N'est pas nuisible, assimilation faible.	»	»
2 °/o	Assimilation sans glycogène.	2 °/o	Dépôt abondant avec glycogène.
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»
1 °/o	Assimilation sans glycogène.	1 °/o	»
»	Nuisible.	»	Non assimilé.

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.
Oxalate d'ammoniaque	$C^2O^4(AzA^4)^2$
— de potassium	$C^2O^4K^2$
Acide malonique	$C^3H^4O^4$
Malonate de potassium	$C^3H^2O^4K^2$
Acide succinique	$C^4H^6O^4$
Succinate d'ammoniaque	$C^4H^4O^4(AzH^4)^2$
Acide pyrotartrique	$C^5H^8O^4$
Pyrotartrate de potassium	$C^5H^6O^4K^2$
Glycérine	$C^3H^8O^3$
Acide glycérique	$C^3H^6O^4$
Glycérate de potassium	$C^3H^5O^4K$
Glycérophosphate de calcium	$C^3H^5(OH)^2PhO^4Ca$
Acide malique	$C^4H^6O^5$
Malate d'ammoniaque	$C^4H^4O^5(AzH^4)^2$
— de potassium	$C^4H^4O^5K^2$
Érythrite	$C^4H^{10}O^4$
Acide tartrique droit	$C^4H^6O^6$
— gauche	
Tartrates d'ammonium droit	$C^4H^4O^6(AzH^4)^2$
— de potassium	$C^4H^4O^6K^2$
— gauche de sodium et d'ammoniaque	$C^4H^4O^6NaAzH^4$
Paratartrate de sodium et d'ammoniaque	
Acide citrique	$C^6H^8O^7$
Citrate d'ammoniaque	$C^6H^5O^7(AzH^4)^3$
— de potassium	$C^6H^5O^5K^3$
Quercite	$C^6H^{12}O^5$
Mannite	$C^6H^8(OH)^6$
Glycose	$C^6H^{12}O^6$
Lévulose	
Galactose	
Inosite	

Concentration.	CULTURE SUR GÉLATINE. Résultats.	Concentration.	CULTURE EN SOLUTIONS. Résultats.
—	—	1 %	Non assimilé.
—	—	»	»
1 %	Nuisible.	»	»
»	Pas nuisible.	»	Assimilation sans glycogène.
»	»	»	Assimilation avec peu de glycogène.
—	—	»	Assimilation avec quantité moyenne de glycogène.
—	—	»	Non assimilé.
—	—	»	Assimilation faible sans glycogène.
5 et 10 %	Croissance active, glycogène abondant.	5 et 10 %	Dépôt considérable avec beaucoup de glycogène.
1 %	Nuisible.	1 %	Non assimilé.
—	—	»	Assimilation sans glycogène.
—	—	à saturation	»
1 %	Pas nuisible.	1 %	Assimilation avec quantité moyenne de glycogène.
—	—	2 %	»
—	—	»	»
1 %	Pas nuisible.	1 %	Assimilation faible sans glycogène.
—	—	»	»
—	—	»	»
—	—	1 et 2 %	Assimilation assez forte sans glycogène.
—	—	»	Assimilation faible sans glycogène.
—	—	»	Assimilation très faible sans glycogène.
—	—	»	Non assimilé.
1 %	Pas nuisible.	1 %	Assimilation très faible sans glycogène.
—	—	1 et 2 %	Assimilation assez forte sans glycogène.
—	—	»	Assimilation faible sans glycogène.
—	—	»	Assimilation assez forte sans glycogène.
5 à 10 %	Assimilation avec glycogène.	1 à 10 %	Assimilation très forte avec glycogène.
2 à 10 %	Assimilation et formation de glycogène abondante.	»	»
»	»	»	»
2 à 5 %	»	»	»
—	—	1 et 2 %	Assimilation faible sans glycogène.

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.
Saccharose	$C^{12}H^{22}O^{11}$
Lactose	$C^{12}H^{22}O^{11}$
Maltose	. . . .
Empois d'amidon	$(C^6H^{10}O^5)^n$
Amidon soluble	. . . .
Gélose (agar-agar)	. . . .
Lichénine	. . . .
Glycogène	. . . .
Gomme arabique	. . . .
Erythrodextrine	. . . .
Dextrine	. . . .
Saccharate de potassium	$C^6H^8O^8Ca$
Acide mucique	$C^6H^{10}O^8$
— fumarique	$C^4H^4O^4$
Méthylamine	CH^3AzH^2
Éthylamine	$C^2H^5AzH^2$
Propylamine	$C^3H^7AzH^2$
Glycocolle	C^2H^3 $AzH^2)O^2$
Hippurate de sodium	$CH^2AzH(COC^6H^5)$ CO^2Na
Leucine	$C^5H^{10}AzH^2$ CO^2H
Acide aspartique	$C^4H^7AzO^4$
Asparagine	$C^4H^8Hz^2O^3$
Acide glutamique	$C^5H^9AzO^4$
Glutamine	$C^5H^{10}Az^2O^3$
Formamide	$CHO.AzH^2$
Acétamide	$C^2H^3OAzH^2$
Urée	$CO<\begin{matrix}AzH^2\\AzH^2\end{matrix}$
Phénol	C^6O^5OH
Acide picrique	$C^6H^2(AzO^2)^3OH$
Hydroquinone	$C^6H^4(OH)^2$
Phloroglucine	$C^6H^3(OH)^3$

Concentration.	CULTURE SUR GÉLATINE. Résultats.	Concentration.	CULTURE EN SOLUTIONS. Résultats.
1 à 10 °/o	Assimilation avec formation abondante de glycogène.	1 à 40 °/o	Assimilation très forte et formation abondante de glycogène.
5 à 10 °/o	»	—	Assimilation avec dépôt peu abondant, mais beaucoup de glycogène.
1 à 5 °/o	»	—	Assimilation très forte avec formation abondante de glycogène.
—	—	—	Assimilation faible sans glycogène.
—	—	—	»
—	—	—	»
—	—	à saturation	»
2 °/o	Assimilation active avec glycogène.	1 °/o	Assimilation avec formation de glycogène.
5 °/o	Assimilation faible.	»	Assimilation faible avec très peu de glycogène.
1 °/o	Assimilation et formation de glycogène.	»	Assimilation et formation de glycogène.
2 °/o	»	2 °/o	»
—	—	à saturation	Assimilation faible sans glycogène.
—	—	»	Assimilation assez forte avec glycogène.
—	—	»	Assimilation faible sans glycogène.
1 °/o	Nuisible.	1 °/o	Non assimilée.
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»
—	—	»	»
—	—	—	—
—	—	»	Assimilation faible sans glycogène.
—	—	»	—
—	—	»	Assimilation sans glycogène.
—	—	»	Assimilation avec glycogène.
—	—	»	Assimilation sans glycogène.
—	-	»	Assimilation avec peu de glycogène.
»	Nuisible.	»	Non assimilé.
»	»	»	»
»	»	»	»
—	—	—	—
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.
Quinone	$C^6H^4O^2$
Salicine	$C^{13}H^{18}O^7$
Saligénine	$C^7H^8O^2$
Amygdaline	$C^{40}H^{27}AzO^{11}$
Benzoate d'ammoniaque	$C^4H^5CO^2AzH^4$
— de sodium	$C^6H^5CO^2Na$
Salicylate d'ammoniaque	$C^7H^4(OH)O^2AzH^4$
— de sodium	$C^7H^4(OH)O^2Na$
Gallate d'ammoniaque	$C^6H^2(OH)^3CO^2AzH^4$
Aniline	$C^6A^5(AzH^2)$
Chlorhydrate d'aniline	$C^6H^5(AzH^2)HCL$
Diphénylamine	$(C^6H^5)^2AzH$
Chlorhydrate de naphtylamine	$C^{10}H^7(AzH^2)HCl$
- de phénylhydrazine	$C^6H^5AzH\text{-}AzH^2,HCl$
Esculine	$C^{15}H^{16}O^9$
Coniférine	$C^{15}H^{22}O^8$
Arbutine	$C^{12}H^{16}O^7$
Saponine	
Acide digallique (tannin)	$C^{14}H^{10}O^9$
Tannate d'ammoniaque	$C^{14}H^9O^9AzH^4$
Phloridzine	$C^{21}H^{24}O^{10}$
Pyridine	C^5H^5Az
Chlorhydrate de cocaïne	$C^{17}H^{21}AzO^4,HCl$
— de morphine	$C^{17}H^{19}AzO^3,HCl$
— de strychnine	$C^{21}H^{22}Az^2O^2,ACl$
— de brucine	$C^{23}H^{26}Az^2O^4,HCl$
Caféine	$C^8H^{10}Az^4O^2$
Sulfate neutre de quinine	$(C^{20}H^{24}Az^2O^2)SO^4H^2$
— de cinchonamine	$(C^{19}H^{24}Az^2O)^2SO^4H^2$
— d'atropine	$(C^{17}H^{23}AzO^3)^2SO^4H^2$
Colchicine	$C^{17}H^{19}AzO^5$
Gélatine très pure	
Albumine de l'œuf	
Caséine	
Fibrine	
Peptone (de viande)	
Caséone (peptone de fromage)	
Nucléine	

Concentration.	CULTURE SUR GÉLATINE. Résultats.	Concentration.	CULTURE EN SOLUTIONS. Résultats.
1 %	Nuisible.	1 %	Non assimilé.
2 %	Assimilation sans glycogène.	1 à 5 %	Assimilation avec glycogène.
1 %	Non assimilée.	1 %	Non assimilée.
2 %	Assimilation avec glycogène.	»	Assimilation avec glycogène.
—	—	»	Non assimilée.
—	—	—	»
1 %	Nuisible.	—	»
»	»	—	»
—	—	—	»
»	Nuisible.	—	»
—	—	—	»
—	—	—	»
—	—	—	»
—	—	—	»
à saturation	Assimilation avec glycogène.	—	Assimilation avec peu de glycogène.
1 %	»	—	»
1 et 2 %	»	—	»
1 %	»	—	»
»	»	—	Non assimilée.
»	»	—	»
à saturation	Non assimilée.	1 %	»
1 %	Nuisible.	»	»
—	—	»	»
—	—	»	»
—	—	»	»
—	—	»	»
—	—	»	»
—	—	à saturation	»
—	—	—	»
—	—	1 %	Assimilation faible sans glycogène.
1 %	—	»	—
—	Assimilation faible sans glycogène.	»	Assimilation faible sans glycogène.
—	Assimilation avec peu de glycogène.	—	—
—	—	—	Assimilation sans glycogène
—	—		Non assimilée.
1 et 2 %	Assimilation avec glycogène.	1 et 2 %	Assimilation avec glycogène.
—	—	—	Assimilation sans glycogène.
—	—	—	Non assimilée.

CHAPITRE IV.

DISCUSSION DES RÉSULTATS OBTENUS.

ALCOOLS. — Comme pour les plantes supérieures, les alcools monoatomiques ont donné des résultats absolument négatifs. Il est surtout intéressant de le constater pour l'alcool éthylique, produit résiduaire de la vie anaérobie de la Levure. Ce corps est cependant un aliment favorable à la nutrition des formes-levures mycodermiques des vins et des bières, ainsi qu'à celle du ferment acétique.

Les alcools polyatomiques sont plus favorables à la Levure que les alcools monoatomiques. Ainsi, elle a pu se nourrir de glycol éthylénique, d'érythrite, de quercite et de mannite. Le cas de la glycérine mérite une attention particulière. Cette substance paraît de plus en plus constituer un des aliments hydrocarbonés qui conviennent le mieux aux organismes les plus variés : les animaux, les plantes, les microbes l'assimilent avec une facilité étonnante.

Il n'y a là rien qui doive paraître extraordinaire si l'on compare les formules de constitution de la glycérine et des glycoses. J'y joins celle de l'aldéhyde glycérique.

CH^2OH	COH	COH
CH OH	CH OH	CH OH
CH^2OH	CH^2OH	CH OH
		CH OH
		CH OH
		CH^2OH
Glycérine	Aldéhyde glycérique	Dextrose
$C^3H^5(OH)^3$	$C^3H^6O^3$	$C^6H^{12}O^6$

L'érythrite est assimilée sans avoir une influence utile bien marquée. D'après moi, elle serait nuisible aux plantes vasculaires et aux Bactéries [1].

[1] *Recherches sur la formation d'amidon*, p. 255.

Éthers et aldhéhyde. — Ils sont nuisibles.

Je regrette de n'avoir pu étudier l'influence de l'aldéhyde glycérique, qui, d'après M. Grimaux, est fermentescible.

Acides organiques et leurs sels. — L'acide formique est trop simple pour servir d'aliment à la Levure et à presque tous les microbes. Je ne connais que le *Penicillium glaucum* qui parvienne à croître, mais bien pauvrement, dans les formiates. M. Jodin [1] et M. Diakonow [2] ont constaté le même fait.

Il est curieux de constater que pour les sels gras autres que les formiates, la simplicité de la molécule n'a aucune influence sur le pouvoir nutritif. Ainsi les acétates sont alimentaires et les proprionates, butyrates et valérianates sont sans action et sont même nuisibles. C'est peut-être de la manière suivante qu'il convient d'expliquer ces différences : ces trois catégories de sels font ordinairement défaut aux sucs végétaux qui constituent l'aliment de prédilection des Levures, tandis que l'acide acétique y est assez fréquent.

Les lactates constituent des aliments extrêmement favorables à la Levure; ils tiennent le premier rang parmi les acides organiques. L'acide lactique est polymère des glycoses, et l'on comprend aisément que, par simple synthèse, le protoplasme puisse faire une molécule de sucre avec deux molécules d'acide lactique.

Parmi les acides divalents, l'acide oxalique est, comme l'acide formique, trop oxydé pour servir d'aliment plastique. Les autres, acides malonique, succinique, pyrotartrique, sont utilisés soit sous cet état, soit à l'état de sels.

Les glycérates, les malates, les tartrates, sauf le paratartrate de sodium et d'ammoniaque, les citrates sont aussi alimentaires, mais beaucoup moins que les lactates.

Les tartrates gauches ne sont guère aussi favorables à la Levure que les tartrates droits. Cette observation est conforme à celle que M. Pasteur avait faite autrefois avec le *Penicillium glaucum*.

[1] *Comptes rendus*, 1865, t. LXI, p. 1179.

[2] *Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft*, Bd V, S. 380.

Il est à remarquer que les acides acétique et succinique ainsi que la glycérine, trois résidus produits pendant la fermentation alcoolique, peuvent être utilisés par le protoplasme qui les a sécrétés et servir à l'édification de matière vivante nouvelle.

Pour donner une idée de la valeur nutritive des sels d'acides gras, il ne sera pas inutile de citer les résultats obtenus par un essai dans l'acétate d'ammoniaque et l'acétate de potassium. Ces deux sels avaient été obtenus par la neutralisation de l'acide acétique, afin d'éviter les impuretés qui auraient pu souiller les sels du commerce. L'essai fut fait le 30 mars 1888; deux matras renfermaient chacun 50 c. c. de la solution minérale nutritive plus 0gr,1 d'acide acétique. L'un fut neutralisé avec la potasse, l'autre avec l'ammoniaque.

Après stérilisation à la vapeur, ils furent ensemencés avec une trace de Levure et abandonnés à la température ordinaire. Au bout de quelques jours, je vis apparaître un léger trouble, puis il se forma un dépôt qui s'accrut, surtout dans la solution ammoniacale.

Le 15 mai, l'expérience fut arrêtée, les dépôts filtrés, lavés, desséchés et pesés.

Poids avec l'acétate de potassium	0gr,017
— — d'ammonium	0gr,021

La matière sèche de la Levure renferme environ $^{14}/_{30}$ de carbone, ce qui correspond à 0gr,00793 de carbone pour le dépôt récolté dans l'acétate de potassium et à 0gr,0098 pour l'autre dépôt. Dans l'acide acétique, il y a $^{24}/_{60}$ de carbone ou 0gr,4 pour 1 gramme d'acide employé. La Levure a donc assimilé près de $^{1}/_{5}$ du carbone contenu dans l'acétate potassique, et à peu près $^{1}/_{4}$ du carbone de l'acétate ammoniacal.

Hydrates de carbone. — Tous les sucres sont alimentaires, mais à des degrés bien différents. Ainsi la glycose, la lévulose et surtout la saccharose et la maltose sont extrêmement favorables à la croissance et à la production de glycogène.

Avec la lactose, le dépôt a été faible mais riche en réserve hydrocarbonée, sans doute à cause de la croissance très lente dans ce

milieu. Je n'y ai pas observé d'endospores, comme l'a indiqué M. Duclaux [1] pour la Levure du vin de Champagne.

L'inosite n'est guère favorable au développement des *Saccharomyces*.

L'action de la Levure sur les substances amylacées cuites est remarquable; elle parvient à les digérer, il est vrai, en proportion minime. Ce microbe sécrète donc de la diastase (amylase). L'observation est facile à vérifier lorsqu'on cultive la Levure sur un peu d'empois ou de gélose déposé à la surface d'un verre de montre. Au bout d'un certain temps, on obtient des colonies rameuses assez étendues.

Comme le glycogène n'est guère soluble, dans le sens exact du mot, la Levure a dû, dans mes essais avec cette substance, la digérer au moyen de la diastase, puis, après l'absorption, il y a eu reconstitution de la réserve glycogénique.

L'assimilation de la gomme arabique n'a rien qui doive nous surprendre, puisque les formes-levures et les moisissures qui les produisent sont très fréquentes sur les matières gommeuses d'origine végétale.

Pour ce qui est des dextrines, leur transformation en alcool par la Levure avait été affirmée par M. Barfoed [2]. Mes expériences ont prouvé qu'il n'en est rien lorsqu'on emploie une semence pure; les résultats contradictoires ne peuvent s'expliquer que par le mélange de bactéries avec la Levure ou encore par l'emploi de races de Levures différentes. Chez beaucoup de Bactéries, la production de diastase est beacoup plus abondante, et il peut s'accomplir des phénomènes de symbiose analogues à ceux que j'ai déjà cités pour l'empois d'amidon.

En culture pure, la Levure que j'ai cultivée peut donc se développer dans les solutions de dextrine, mais elle est incapable d'y provoquer une fermentation alcoolique. Ce résultat n'est pas sans importance industrielle, car le moût de biére renferme une proportion assez forte de dextrine.

---

[1] *Annales de l'Institut Pasteur*, t. I, p. 573.

[2] *Moniteur scientifique de Quesneville*, 1878.

Amines et amides. — Les amines et les amides, à réaction alcaline, se sont montrées nuisibles à la Levure, qui ne peut croître que dans les milieux acides.

Au contraire, les amines-acides (leucine), à l'exception du glycocolle, les amines biacides (acides aspartique et glutamique), les amines-amides (asparagine et glutamine) peuvent servir à la constitution du protoplasme, à défaut d'aliments plus favorables.

La remarque faite à propos de la glycérine et de l'acide succinique s'applique encore à la leucine, produit résiduaire formé en grande quantité pendant l'autophagie de la Levure.

Composés aromatiques. — Je n'en ai observé aucun que la Levure puisse utiliser comme aliment. Il semble que ce soit là une règle commune au plus grand nombre d'êtres inférieurs. A peine quelques races de Bactéries et des Flagellates parviennent à se nourrir de certains corps de la série aromatique. Un tel résultat porte à admettre que ceux-ci ont un arrangement moléculaire assez différent des matières sucrées et albuminoïdes, les aliments de prédilection de tant d'organismes.

Glycosides. — Par l'élément sucré qu'ils renferment, les glycosides, surtout la salicine et l'amygdaline, sont très favorables à la croissance des êtres inférieurs. Toutefois, il importe d'observer que le groupe aromatique associé à la glycose de constitution ne joue pas de rôle actif. Témoin, la saligénine, qui n'a pas été assimilée.

Alcaloïdes. — L'influence des alcaloïdes sur la fermentation alcoolique a été étudiée jadis par plusieurs observateurs et plus récemment par M. Marcaci[1].

D'après cet auteur, on peut admettre que les alcaloïdes, et surtout les sels de strychnine, d'atropine et de morphine, employés en solutions suffisamment étendues, stimulent la fermentation alcoolique.

Cette action ne peut s'expliquer par l'assimilation des alcaloïdes, mais plutôt par l'excitation qu'ils communiquent aux cellules vivantes.

On ne se serait pas attendu à rencontrer parmi ces corps de

[1] *Archives italiennes de Biologie*, 1887, t. IX, p. 2.

véritables aliments pour les champignons inférieurs. Tel est le cas cependant de la colchicine et du sulfate d'atropine, avec lesquels la Levure et la forme-levure de *Cladosporium* m'ont donné un développement incontestable. Les produits employés étaient très purs. L'observation devient moins extraordinaire lorsqu'on réfléchit aux moisissures et au formes-levures qui, en automne, envahissent les tiges et les fruits des plantes à alcaloïdes.

Albuminoïdes. — Pour que la Levure puisse assimiler l'albumine de l'œuf, elle doit sécréter de la pepsine, ce qui porte à trois le nombre de zymases que ce microbe peut produire : l'invertine, la diastase et la pepsine. On pourrait même y ajouter la zymase à laquelle on attribue le dédoublement des glycosides.

La production de glycogène par l'albumine et les peptones s'explique par la subtance sucrée que l'on admet dans la constitution des albuminoïdes. J'ai aussi fait voir que le groupe azoté qu'ils renferment (asparagine, glutamine) peut, mais à un moindre degré, produire du glycogène.

Des expériences dont je viens de faire l'exposé, il résulte que le pouvoir d'assimilation et de production de réserve hydrocarbonée est bien plus étendu chez la Levure que dans tous les autres organismes étudiés jusqu'ici à ce point de vue.

Chez les plantes supérieures, on ne connaît que les sucres, la glycérine, la mannite et la dulcite qui puissent servir à la production d'amidon dans les essais de nutrition artificielle.

D'après M. Hoppe-Seyler [1], les animaux peuvent produire du glycogène aux dépens des sucres, de l'inuline, du glycogène, de l'amidon, de la lichénine, de la glycérine, de l'huile d'olive, de l'arbutine, des albuminoïdes et de la gélatine.

Les capacités de la Levure sont bien plus grandes. C'est là, d'ailleurs, une propriété commune à la plupart des microbes et dont il faut chercher l'explication dans la simplicité de structure et de fonctions de ces organismes.

[1] *Physiolog. Chemie,* SS. 709 et 958.

CHAPITRE V.

ACTION PARTICULIÈRE DE QUELQUES SOLUTIONS.

§ I. — La Levure de bière ne produit pas d'alcool aux dépens des substances organiques autres que les sucres [1] et ne peut les consommer qu'en présence d'oxygène à l'état libre.

Dans l'historique des travaux entrepris sur la nutrition de la Levure, j'ai déjà insisté sur la nécessité d'établir une distinction entre les corps simplement alimentaires et ceux qui permettent la production d'alcool.

Pour tous les corps que j'ai étudiés, je me suis assuré qu'il n'y en a point qui puissent donner de l'alcool en dehors des sucres déjà connus. Les liquides qui avaient donné un dépôt de Levure ont été distillés, et j'ai recherché avec attention les stries caractéristiques signalées par M. Pasteur. Lorsque le premier tiers de la solution était distillée, j'ai eu recours au compte-gouttes Duclaux, qui permet de retrouver des traces d'alcool mélangées à l'eau.

La Levure qui s'est développée dans les solutions de sels d'acides gras, de glycérine, de mannite, de peptones, etc., n'a pas perdu son pouvoir ferment. Dans le but de m'en assurer, j'ai ensemencé dans le moût de bière stérilisé de la Levure qui s'était développée aux dépens des matières suivantes :

Acétates de potassium et d'ammoniaque;
Lactates de potassium et de calcium;
Glycérine;
Érythrite;
Mannite;
Gomme arabique;
Asparagine;
Salicine;
Colchicine;
Peptone.

Dans tous les essais, la fermentation n'a pas tardé à se manifester de la manière la plus nette. Il faut donc admettre que le

[1] En comprenant l'aldéhyde glycérique parmi les substances sucrées.

caractère ferment de la Levure fait partie des propriétés fondamentales de son protoplasme.

Si la physiologie de ce microbe ne s'est pas modifiée par les variations dans la nature de l'aliment, il n'en est pas tout à fait de même des caractères morphologiques. Dans les solutions de lactates, de tartrates, d'asparagine, etc., la Levure forme des amas floconneux qui se déposent au fond des vases et qui rappellent l'aspect des dépôts particuliers à certaines Levures basses. Au microscope, on voit des cellules plus petites que dans les moûts sucrés, arrondies, de 5 à 7 μ de diamètre. Cette modification me paraît trahir un malaise physiologique, car on peut l'observer aussi dans les solutions concentrées de saccharose (40 à 50 °/₀). Elle disparaît lorsque ces cellules arrondies sont ensemencées dans un liquide plus favorable, tel que le moût de bière.

C'est la propriété de décomposer les sucres en alcool et en acide carbonique qui permet à la Levure de vivre à l'abri de l'air pendant un temps assez long. Puisque dans mes essais avec des aliments non sucrés, je n'avais pas observé de production d'alcool, je devais m'attendre à voir la Levure refuser de croître dans le vide lorsqu'elle ne dispose que de substances organiques autres que les sucres. C'est, en effet, ce que l'expérience a permis d'affirmer.

De la Levure fut cultivée dans des tubes à essais contenant quelques centimètres cubes des solutions suivantes additionnées de matières minérales :

Glycérine à 5 °/o;

Lactate de potassium à 2 °/o;

Tartrate d'ammoniaque à 2 °/o;

Succinate d'ammoniaque à 2 °/o.

Des cultures servant de témoins ont été laissées au contact de l'air, protégées contre les poussières par un tampon d'ouate. Dans une autre série, les tubes à essais ont été étirés, puis j'y ai fait le vide au moyen de la pompe à mercure. Après un mois, les solutions exposées à l'air avaient donné des dépôts de cellules de Levure relativement volumineux; dans le vide, l'accroissement avait été beaucoup moindre. J'attribue le faible développement qui s'y est fait à l'oxygène que la Levure avait dû fixer avant d'être privée d'air.

On sait, en effet, que le protoplasme de la Levure peut être l'objet d'une véritable accumulation d'oxygène. Il n'y a rien d'étonnant dans ce phénomène, puisque les albuminoïdes et beaucoup de matières organiques moins complexes peuvent s'oxyder avec la plus grande facilité.

§ II. — Action des acides organiques.

La préférence des Levures pour les moûts légèrement acides est connue d'ancienne date. Ces organismes évitent ainsi la concurrence, dans leur milieu alimentaire, des Bactéries, dont la plupart ne peuvent résister à une acidité trop élevée.

Cultivées dans les liquides neutres, les Levures ne tardent pas à les aciduler; la quantité d'acide ainsi produit augmente jusqu'à ce qu'elle atteigne une limite maximum. En présence de ce fait, il était naturel de rechercher l'influence de l'augmentation d'acidité sur la Levure.

La réponse à cette question, envisagée au point de vue de la fermentation alcoolique, a été donnée par Dumas [1] et par M. Hayduck.

Dumas avait constaté que les acides, tant minéraux qu'organiques (acétique, oxalique, tartrique), employés à faible dose sont sans action sur la fermentation. Au contraire, à doses plus élevées, il y a retard ou arrêt comme il fallait s'y attendre.

D'après M. Hayduck [2], la fermentation est favorisée par 2 °/₀₀ d'acide lactique, ralentie par 2,5 °/₀ et arrêtée par 4,6 °/₀ du même acide. L'accroissement de la Levure est hâté par 1 °/₀₀ d'acide lactique, ralenti par 1,5 °/₀ et arrêté par 4 °/₀.

Le même auteur rappelle des observations de M. Maerker, qui ont montré que les acides gras volatils exercent sur la fermentation une action beaucoup plus fâcheuse que l'acide lactique, qui n'est pas volatil.

---

[1] *Comptes rendus,* 1872, t. LXXV, p. 277, et *Annales de chimie et de physique,* 5e série, t. III.

[2] *Biedermann's Centralblatt,* 1881.

Certes, ces résultats ne sont pas dépourvus de valeur; mais il n'était pas inutile de les contrôler par des cultures de Levure tout à fait pures. Aussi j'ai profité de mes études actuelles pour faire quelques observations sur ce sujet.

A du moût de bière neutralisé, j'ai ajouté 1 °/₀ des acides suivants :

Acide formique.	Acide lactique.
— acétique.	— oxalique.
— propionique.	— succinique.
— butyrique.	— malique.
— valérianique.	— tartrique.
— glycolique.	— citrique.

Il y a eu développement dans les moûts additionnés de :

Acide glycolique.	Acide malique.
— lactique.	— tartrique.
— succinique.	— citrique.

La fermentation était peu active et rappelait celle que donnent les Levures basses par le dépôt appliqué contre le fond des vases de culture.

Cependant, la Levure a conservé l'aspect rameux caractéristique des Levures hautes; d'ailleurs, le dépôt placé dans un moût moins acide donne lieu à un développement normal. Avec l'acide citrique, il y avait un dépôt très riche en glycogène, ce qui n'existait pas dans les moûts avec les cinq autres acides. Quant aux acides formique, acétique, propionique, butyrique, valérianique et oxalique, ils ont empêché la multiplication de la Levure, sans cependant la tuer, car elle pouvait encore faire fermenter des liquides moins acides. D'autres essais faits dans la solution minérale m'ont montré que les acides glycolique, lactique, succinique, malique, tartrique et citrique sont assimilés, péniblement, il est vrai, par la Levure.

A forte concentration, les mêmes acides sont relativement moins nuisibles que les autres acides organiques. Ainsi la Levure végète encore dans les moûts sucrés qui renferment

3 °/₀	d'acide	lactique,
2,5 °/₀	—	citrique,
2 °/₀	—	tartrique,
2 °/₀	—	malique.

Dans les moûts sucrés aussi fortement acidulés, surtout avec les acides citrique et tartrique, il y a énormément de glycogène dans les cellules.

Dans les moûts additionnés de

3,5 °/o	d'acide	lactique,
3 °/o	—	citrique,
2,5 °/o	—	tartrique,
2,5 °/o	—	malique,

la Levure ne se développe plus, mais dès qu'elle est remise en culture dans un moût ordinaire, elle croît et fermente avec toute l'énergie habituelle.

J'ai recherché si la Levure ne peut s'accomoder à des doses d'acides de plus en plus élevées. Contrairement à mes prévisions, elle ne m'a pas paru susceptible d'une pareille éducation. Il faut peut-être en rechercher la cause dans ce que, à l'état naturel, les Levures sont les hôtes normaux de liquides très acides, comme le jus de raisins et des autres fruits sucrés. Peut-être aussi, la durée de la culture (six à huit jours) n'avait pas été assez prolongée dans les liquides très acides pour communiquer au protoplasme une impression assez profonde. Le temps est dans ces sortes de questions un facteur important. Et l'on doit admettre que ce sont surtout les différences dans la nature des moûts de bière qui ont imprimé leurs caractères distinctifs aux diverses races de Levures hautes et basses employées dans l'industrie.

La faculté d'accommodation de la Levure est plus évidente lorsqu'on étudie l'action de l'alcool à doses très élevées.

§ III. — Action de l'alcool à doses très élevées.

On admet que l'arrêt de la fermentation dans les vins du Midi, qui conservent une proportion de sucre assez forte, est causée par la concentration de l'alcool. Ce produit, résidu de la fermentation, ne peut, comme nous le savons déjà, être utilisé par la Levure, et il finit par en suspendre les fonctions. Il n'y a pas, à ma connaissance, d'indications précises sur la dose d'alcool qui arrête le développement du ferment alcoolique.

M. Flügge[1] indique 14 %, M. Schützenberger[2] 20 %, chiffres trop différents pour ne pas provoquer des recherches nouvelles.

Mes expériences ont été faites avec quatres races de Levure :

Levure de bière haute de Bruxelles ;

— — — de pale ale ;

— — basse de Strasbourg ;

— de vin de Champagne.

Le liquide à faire fermenter était du liquide de touraillons avec 5 % de sucre interverti ; j'y ajoutais des quantités variables d'alcool absolu.

La Levure de Bruxelles donne dans les liquides avec 7,5 et 8 % d'alcool, en volume, une fermentation très active et un dépôt assez abondant ; avec 9 %, le dépôt est très faible et 10 % arrêtent le développement.

Pour la Levure de Strasbourg, il n'y a aucune croissance dans un moût qui renferme 8 % d'alcool ; avec 6 %, le dépôt est très notable, mais il diminue avec 7 %.

La Levure de pale ale avec 10 % d'alcool produit un dépôt très net ; 12 % d'alcool la rendent inactive.

Quant à la Levure de Champagne, elle fermente avec une grande énergie dans des moûts additionnés de 7,5 % d'alcool, mais elle cesse de croître dans un liquide qui contient 10 % de ce produit.

Résultat assez inattendu, le dépôt des Levures basses de Strasbourg et de Champagne prend l'aspect rameux des Levures hautes sous l'influence de fortes doses d'alcool. Cependant, à la longue, les cellules se séparent et présentent leur forme habituelle.

A noter aussi le dépôt floconneux, en grumeaux, de la Levure de Bruxelles dans les essais avec 8 et 9 % d'alcool ; en masse, il simule à s'y méprendre le dépôt de la Levure basse de Strasbourg.

Les expériences précédentes avaient été faites avec des Levures provenant de liquides faiblement alcooliques. Les résultats sont différents lorsqu'on emploie une semence empruntée à des liquides plus riches en alcool. Dans les essais que je vais décrire, je me

---

[1] *Les micro-organismes*, p. 448.

[2] *Les fermentations*, p. 131.

suis servi de semences récoltées dans les mélanges indiqués tout à l'heure.

De la Levure de bière de Bruxelles et de la Levure de Champagne développées dans des liquides à 9 °/₀ d'alcool furent mises en culture dans des liquides sucrés à 10 et 12 °/₀ d'alcool. La Levure de Strasbourg, originaire d'une culture faite dans un moût à 7 °/₀ d'alcool, fut ensemencée en présence de 9 et 10 °/₀ d'alcool.

Les Levures de Bruxelles et de Champagne ont donné des dépôts et un dégagement gazeux assez importants dans les liquides à 10 °/₀ d'alcool. La proportion de 12 °/₀ d'alcool paralysait la croissance.

Quant à la Levure de Strasbourg, elle s'est multpliée activement en présence de 9 °/₀ d'alcool, mais non avec 10 °/₀.

Des Levures habituées par ces derniers essais à des quantités d'alcool plus fortes furent introduites dans des moûts encore plus riches en alcool. J'observai que la Levure de Bruxelles d'abord cultivée dans un liquide à 10 °/₀ d'alcool parvenait à croître, non sans quelque peine, dans un moût à 12 °/₀ d'alcool.

La Levure de Champagne des cultures à 10 °/₀ n'a pas réussi à se reproduire avec 11 et 12 °/₀; quant à la Levure de Strasbourg à 9 °/₀, elle a crû dans les liquides avec 10 et 11 °/₀, mais non avec 12 °/₀ d'alcool.

Ces expériences nous prouvent que les Levures s'habituent graduellement à des doses d'alcool croissantes. Elles sont douées d'un véritable pouvoir d'accommodation analogue à celui qui a été signalé pour les Bactéries par M. Kossiakoff[1]. D'après cet auteur, les bactéries pathogènes, aussi bien que les bactéries vulgaires, exigent des doses plus fortes de borate de sodium, d'acide borique et de bichlorure de mercure lorsqu'elles ont précédemment vécu dans des solutions non toxiques de ces substances. Il est très probable que ce pouvoir d'accommodation est général pour tous les êtres vivants. Quoi qu'il en soit, il est des plus nets pour les Levures et nous permet de comprendre comment la fermentation peut se continuer dans des vins du Midi contenant 18 à 21 °/₀ d'alcool (en volume).

[1] *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887, t. I, p. 465.

J'aurai bientôt l'occasion de parler d'autres exemples de phénomènes d'adaptation que présentent les Levures.

A propos du pouvoir d'accommodation des Levures, j'aime à rappeler une ancienne observation de M. Pasteur [1] : « La Levure qui a poussé dans un tel milieu (formé d'eau, de sucre candi très pur, de cendres de Levure et d'un sel ammoniacal) devient plus propre à s'y multiplier; elle s'y acclimate en quelque sorte comme les plantes dans certains sols. »

§ IV. — Action des solutions concentrées de sucres.

Les matières dissoutes, à dose assez forte, exercent sur les cellules vivantes une action osmotique, qui peut nuire à l'activité du protoplasme. Une substance alimentaire devient ainsi un paralysant pour les microbes qui y sont mis en culture.

C'est ce qui arrive lorsqu'on ensemence la Levure dans des solutions très concentrées de saccharose.

Saccharose. — J'ai préparé du liquide de touraillons avec 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 °/₀ de sucre de canne bien pur. Pour la facilité du travail, il convient de faire un sirop qui pour 100 centimètres cubes contienne 100 grammes de saccharose, et de le diluer en y ajoutant du liquide de touraillons. Ce dernier milieu, lorsqu'il est bien préparé, ne renferme pas de matière sucrée.

Les solutions sucrées furent stérilisées et j'ajoutai une goutte d'un moût sucré en fermentation.

Les cultures faites le 15 décembre 1887, placées à la température de 28°, furent examinées au microscope au bout de trois jours. Dans la solution à 10 °/₀ et surtout dans celle à 15 °/₀, le développement était des plus actifs, la fermentation énergique et le dépôt abondant; les cellules étaient bourrées de glycogène. Avec 20 °/₀ de sucre, le dépôt était aussi important, mais la fermentation fut plus tardive et les cellules ne montraient au microscope que fort peu de glycogène.

[1] *Comptes rendus*, 1874, t. LXXVIII, p. 217.

Le dépôt produit dans la solution à 30 °/₀ était moins abondant que dans les solutions moins concentrées. Il n'y avait plus de dégagement gazeux et les cellules, réunies en amas volumineux, étaient très pauvres en glycogène. Ces cellules étaient plus petites et plus arrondies que d'habitude.

Avec 40 °/₀, le dépôt était encore plus faible et il était presque nul dans le liquide à 50 °/₀ de saccharose.

Il n'y eut aucun développement dans les solutions de sucre à 60, 70, 80 et 90 °/₀.

Le 3 janvier, je dosai l'alcool, le sucre interverti et la saccharose dans les mélanges qui avaient permis à la Levure de se développer. Il me fut impossible d'évaluer les poids de Levure produits, à cause de l'adhérence sur les filtres du sucre des solutions les plus concentrées.

Le dosage de l'alcool fut fait au moyen du compte-gouttes Duclaux. La liqueur de Fehling servit à doser le sucre interverti dans les liquides de culture. Pour déterminer la quantité de saccharose qui n'avait pas été intervertie, ces liquides furent bouillis pendant cinq minutes avec une faible quantité d'acide chlorhydrique. Après neutralisation, je dosai le sucre total. La différence entre le résultat ainsi obtenu et la quantité de sucre interverti indiquait la quantité de sucre qui correspondait à la saccharose non modifiée.

Concentration des solutions sucrées.	Alcool	Glycose.	Saccharose évaluée en sucre réducteur.
10 °/₀	4,6	0,3	0,0
15	6,8	1,7	0,0
20	3,0	9,8	4,8
30	2,8	18,9	6,7
40	1,5	27,7	11,0
50	0,5	30,3	21,0

Les expériences actuelles m'ont appris que des solutions de 10 à 15 °/₀ de saccharose sont les plus favorables au développement de la Levure et à l'accumulation dans ses cellules de réserves glycogéniques. Cette observation a servi de point de départ à des recherches sur l'importance de ces réserves; elles seront exposées plus loin.

On peut remarquer que non seulement les fortes doses de saccharose nuisent au développement de la Levure, mais qu'elles semblent ralentir l'action de la sucrase (invertine), puisque, dans les solutions à 30, 40 et 70 °/₀, il reste une forte proportion de saccharose non intervertie. Vraisemblablement, l'influence n'est pas directe, mais s'exerce par l'intermédiaire du sucre interverti. On sait, en effet, que l'action des zymases, et particulièrement de la sucrase [1], est diminuée par l'accumulation de leurs produits.

Sucre interverti et dextrose. — Au lieu d'ajouter la saccharose directement au liquide de touraillons, on peut auparavant lui faire subir l'interversion par un acide. On obtient ainsi un mélange de dextrose et de lévulose dont les solutions concentrées exercent sur la Levure une action fort analogue à celle du sucre de canne.

Les solutions avec 10 et 15 °/₀ de sucre interverti sont les plus favorables; la fermentation y est active et le dépôt de cellules de levure très abondant. Lorsque la proportion de sucre est plus forte, le dégagement gazeux devient de plus en plus faible; à la dose de 60 °/₀, le ferment cesse de croître.

Les résultats obtenus avec des solutions de dextrose ne diffèrent pas de ceux que je viens d'exposer pour le sucre interverti. L'optimum de concentration se trouve également entre 10 et 15 °/₀; la fermentation est encore assez active avec 20 et 25 °/₀.

Les solutions plus concentrées restent limpides pendant les deux premiers jours (à 28°). Au troisième jour, elles commencent à se troubler, et le lendemain, les tubes qui renferment 30, 32 et 36 °/₀ de glycose sont le siège d'un dégagement gazeux peu abondant. Le jour suivant, il en est de même dans la culture à 40 °/₀.

Dans les cultures avec 45, 50 et 55 °/₀, la Levure finit par produire un trouble assez marqué. Elle semble donc s'habituer graduellement à ces proportions élevées de glycose. J'ai remarqué que la croissance se fait principalement au voisinage de la surface des liquides fortement sucrés, dans la portion la mieux aérée. Au microscope, les cellules apparaissent très réfringentes et l'iode les

[1] Duclaux, *Microbiologie*, p. 165.

colore en rouge-brun très foncé, tellement elles sont riches en glycogène.

La Levure ne s'est pas développée dans une solution avec 60 °/₀ de glycose.

Maltose. — Dans la maltose, la Levure croît et fermente très activement au sein de solutions qui renferment 10, 15, 20 et 25 °/₀ de ce sucre. Mais une dose de 30 °/₀ diminue l'énergie du ferment; l'influence nuisible est encore plus accusée dans la solution à 40 °/₀. Avec 50 °/₀, on ne voit plus qu'un léger trouble qui trahit une végétation maladive. En effet, les cellules sont réunies en amas assez volumineux et leur contenu renferme de gros granules. Aucun développement ne s'est fait dans les solutions de maltose à 60 et 70 °/₀.

Il n'est pas sans intérêt de remarquer que la Levure de bière se comporte de la même manière, à peu de chose près, dans les solutions concentrées de saccharose, de sucre interverti et de dextrose, Or, le pouvoir osmotique de ces sucres n'est pas le même, mais est en raison inverse de leurs poids atomiques.

Le poids atomique de la saccharose et de la maltose est de 342 et celui des glycoses de 180. Une solution de sucre de canne à 34,2 °/₀ et une autre de dextrose à 18 °/₀ doivent donc exercer la même action plasmolytique sur les cellules végétales. Il n'en est cependant pas ainsi dans les résultats donnés par mes cultures; avec la Levure, l'optimum de concentration est le même pour ces deux sucres, et à la dose de 60 °/₀, ils exercent la même action paralysante sur le développement.

Cette discordance entre les faits indiqués et les lois des coefficients isotoniques découvertes par M. de Vries n'est pas difficile à expliquer. Lorsque des cellules de Levure de bière se trouvent en présence de saccharose, il se produit une interversion plus ou moins rapide de ce sucre. Pour chaque molécule de sucre cristallisable qui passe à l'état de glycose, le pouvoir osmotique devient deux fois plus grand. Au fur et à mesure que l'interversion se continue, l'action plasmolysante du liquide extérieur se rapproche de plus en plus de celle des doses nuisibles pour les cellules de Levure. Dans les premiers temps, elle est due à un mélange de saccharose

et de sucre interverti; plus tard, dans les solutions qui ne sont pas trop concentrées, il n'y a plus que du sucre interverti. Lorsque la quantité de Levure ensemencée est assez grande, il suffit de quelques heures pour que tout le sucre de canne ait disparu dans le liquide nutritif. C'est ce qui ressort d'expériences qui seront rapportées au chapitre VI.

Dans des solutions sucrées ensemencées avec une goutte d'un liquide de culture, la sécrétion de sucrase est au début beaucoup moins abondante. Le retard qui se fait ainsi dans l'interversion est encore accru lorsque des solutions très concentrées de saccharose ralentissent le bourgeonnement cellulaire. Pour s'en convaincre, il suffit de jeter les yeux sur le tableau de la page 176.

La rapidité du développement de la Levure et de l'interversion de la saccharose dans les solutions à 10 et 15 °/₀ nous explique que l'optimum de concentration pour ce sucre soit le même que pour les glycoses.

La remarque relative à la saccharose ne s'applique pas à la maltose, qui appartient cependant au même groupe de substances sucrées représentées par la formule $C^{12}H^{22}O^{11}$. La Levure de bière que j'ai étudiée m'a paru vivre tout aussi bien dans des solutions de maltose à 10, 15, 20 et 25 °/₀. Dès lors, on est en droit d'admettre que ce corps n'est pas transformé en glycose avant de pénétrer dans les cellules de la Levure, sinon les solutions à 20 et 25 °/₀ se seraient montrées nuisibles à la fermentation. M. Ém. Bourquelot[1] est arrivé à la même conclusion par une voie toute différente.

Si nous admettons que l'optimum de concentration est pour la maltose proche de 25 °/₀, soit 22,5 °/₀, nous obtiendrons $22{,}5 \times {}^{180}/_{342}$ ou environ 11,8 °/₀ pour les glycoses et le sucre de canne. Ce chiffre est assez conforme à ce qui a été observé dans les essais de culture.

Des recherches qui seront exposées plus loin (p. 196) m'ont aussi appris que la quantité de glycose qui se trouve normalement dans les cellules de Levure est d'environ 11 à 12 °/₀. L'excès se dépose à l'état de glycogène et perd la plus grande partie de son action osmotique. L'optimum de concentration du liquide nutritif est

[1] *Recherches sur les propriétés physiologiques de la maltose.* (Journal de l'Anat. et de la Physiologie, 1886, p. 204.)

donc, pour la glycose, très rapproché de la concentration de ce sucre dans le suc cellulaire.

§ V. — Action des solutions salines concentrées.

Lorsque des cellules de Levure végètent dans des solutions de glycose à 55 °/₀, elles doivent faire équilibre à des actions osmotiques énormes. Si l'on admet avec MM. de Vries et Pfeffer que la pression qui règne dans une cellule plasmolysée par une solution de nitrate de potassium à 1 °/₀ est au moins de 3 atmosphères, la pression de ces cellules équivaut à au moins 60 atmosphères [1].

Pour atteindre un tel résultat, l'organisme a recours à des substances organiques et à des matières salines dissoutes dans le suc cellulaire.

Parmi les premières, nous savons qu'il y a de la glycose en proportion suffisante (11 à 12 °/₀) pour égaler le $^1/_5$ de la pression totale, ce qui correspond à environ 12 atmosphères. Habituellement, la Levure n'a pas à supporter des pressions beaucoup plus fortes. Comme la formation de glycogène s'oppose à l'accumulation indéfinie de glycose dans le suc cellulaire, il faut que d'autres matières dissoutes viennent en aide à l'organisme. Tel est peut-être le rôle de certains produits de la vie de la Levure et, entre autres, de la glycérine et de l'acide succinique. Toutefois, si ce microbe se laisse pénétrer facilement par des subtances salines, il peut de la sorte acquérir une tension osmotique plus élevée.

Pour mettre en évidence cette faculté d'absorption, j'ai fait des cultures dans des liquides nutritifs faiblement sucrés, mais additionnés de sels dont l'action osmotique est considérable.

Le 20 mai 1889, je prépare des tubes avec liquide de touraillons additionné de 2 °/₀ de sucre interverti et 5,05, 6,06, 7,07, 8,08, 9,09, 10,10, 12,12, 14,14 °/₀ de nitrate de potassium.

Après trois jours à 26°, il y a un dépôt notable dans le tube avec 5,05 °/₀, assez abondant, mais moindre avec 6,06 °/₀. Le dépôt

[1] Des solutions de 1,01 de nitrate de potassium et de 2,70 de glycose sont isotoniques.

est faible dans le tube avec 7,07 °/₀ et encore plus faible avec 8,08 et 9,09 °/₀.

Les tubes avec 10,10 et 12,12 °/₀, limpides le 23, se sont seulement troublés à partir du 25.

La Levure se ressent nettement de la solution saline qui la baigne. Sa croissance n'en est pas seulement ralentie, mais les dimensions de ses cellules sont plus petites. Dans les solutions à 9,09, 10,10, 12,12, 14,14 °/₀, les cellules étaient réunies en paquets rameux ; elles étaient arrondies au lieu de présenter la forme ovoïde qui est propre à la race étudiée. Les plus grosses avaient 5 à 6 μ de diamètre.

Toutefois, ces modifications ne sont pas durables et disparaissent dès que la culture est faite dans les moûts sucrés ordinaires.

Ainsi que je l'ai indiqué plus haut, la végétation de la Levure dans des solutions salines se comprend par la pénétration du sel à l'intérieur des cellules. Je m'en suis assuré au moyen de la diphénylamine qui m'a donné une coloration bleue assez nette du contenu des cellules développées dans les solutions avec nitrate de potassium.

La lenteur du développement dans les liquides riches en nitrate de potassium permet de supposer que la Levure s'habitue insensiblement à la matière saline et aux actions osmotiques qu'elle provoque. Pour m'en convaincre, j'ai fait des cultures comparatives dans des solutions faiblement sucrées contenant 20 et 25 °/₀ de nitrate de potassium. La semence de Levure provenait, pour les unes, d'un moût sucré ordinaire, pour les autres, d'une culture faite avec 14,14 °/₀ de nitrate.

Au cinquième jour, il y avait, dans les tubes avec semence déjà habituée au nitrate, un développement assez marqué, surtout dans celui qui contenait 20 °/₀ de nitrate. Les cellules avaient l'aspect que j'ai décrit ci-dessus. Quant aux tubes dont la semence provenait d'un moût sans nitrate, ils ne sont devenus troubles que quatre jours plus tard, c'est-à-dire le neuvième jour.

La Levure de bière s'accoutume donc aux solutions salines très concentrées, comme elle le fait pour des doses élevées de sucre et d'alcool.

Cette accoutumance peut comporter deux manières d'être différentes : la Levure s'habitue simplement à des tensions osmotiques

considérables et elle reste indifférente à la nature du sel. S'il en est ainsi, des quantités isotoniques de deux sels produiront un effet identique à la fois sur les cellules de même génération et sur leur descendance. Il peut aussi en être autrement : l'accoutumance acquise pour un sel ne se fera pas sentir pour d'autres sels.

Quelques essais vont nous éclairer sur ce point.

Le 7 octobre 1889, j'ai préparé du liquide de touraillons additionné de 2 °/₀ de sucre interverti et de 5,85, 8,775, 11,7, 17,55, 23,4, 29,25 °/₀ de chlorure de sodium. J'en ai fait deux séries de tubes, l'une ensemencée avec de la Levure ordinaire, l'autre avec un dépôt originaire d'un moût additionné de nitrate de potassium à saturation (environ 30 °/₀). Les cultures furent placées à l'étuve à 28°.

Comme il fallait s'y attendre, la Levure s'est multipliée d'autant plus activement que la solution était moins concentrée. Mais, chose curieuse, la Levure ordinaire avait partout le pas sur celle qui provenait du liquide sucré avec nitrate de potassium. Pour toutes les concentrations étudiées, la croissance était plus précoce et le trouble plus marqué dans les tubes ensemencés avec la première race.

La Levure qui est parvenue à croître dans les solutions très concentrées de chlorure de sodium s'y habitue bientôt. Ainsi, après avoir été cultivée avec 8,775 et 11,7 °/₀ de chlorure de sodium, elle s'est, avec 23,4 et 29,25 °/₀ du même sel, développée plus rapidement que la race qui n'y était pas accoutumée.

Dans une solution saline, la Levure est-elle impressionnée à la fois par l'acide et la base du sel ou seulement par l'un des deux? C'est ce que je me suis proposé de vérifier par une nouvelle série de cultures.

Le 25 mai 1890, j'ai préparé du liquide de touraillons additionné de 2,5 °/₀ de sucre interverti et auquel j'ai ajouté l'une des matières salines suivantes :

Nitrate de potassium	20,2 °/₀
— de sodium	17,0 »
de calcium.	24,6 »
Sulfate de potassium à saturation, environ . .	10,0 »
Phosphate de potassium	26,13 »
Chlorure de sodium	11,7 »
— de potassium	14,92 »

Toutes ces solutions, à l'exception de celle de sulfate de potassium, sont isotoniques, c'est-à-dire qu'elles exercent la même action osmotique. L'influence qu'elles peuvent avoir sur la Levure doit donc être atribuée à la nature du sel.

Les deux races de Levure obtenues huit mois auparavant par la culture dans des solutions concentrées de nitrate de potassium et de chlorure de sodium furent cultivées comparativement dans les divers mélanges salins que je viens d'indiquer. Après sept jours de séjour à la température ordinaire, la Levure habituée au nitrate de potassium s'y était fort inégalement développée. Dans le matras avec nitrate de potassium ainsi que dans celui qui contenait du sulfate potassique, il y avait un dépôt abondant. La végétation était un peu moins florissante sous l'influence du phosphate et du chlorure de potassium. Elle était insignifiante dans le liquide de touraillons additionné de chlorure de sodium et de nitrate de sodium et nulle dans le matras contenant du nitrate de calcium.

La Levure habituée au chlorure de sodium avait produit un dépôt peu abondant dans le liquide sucré additionné de chlorure de sodium et était demeurée inactive dans les autres mélanges nutritifs. Cette race s'est montrée beaucoup moins vigoureuse que l'autre dans mes différentes cultures, ce qui tient sans doute à l'action propre du sel sur l'organisme.

Les résultats fournis par la Levure habituée au nitrate de potassium nous démontrent à l'évidence que ce n'est point l'acide mais la base qui se fait sentir sur la descendance. En effet, cette Levure ne se développe guère dans le liquide de touraillons avec nitrate de calcium, et reste inerte au contact du nitrate de sodium. Au contraire, elle affectionne particulièrement les sels de potassium et s'y développe avec une vigueur à peu près égale lorsque les concentrations sont isotoniques.

Il est donc incontestable que la Levure peut s'accoutumer aux matières salines, non seulement au point de vue de la pression osmotique, mais aussi relativement à la nature chimique de ces sels. Sans doute, cette dernière propriété a contribué à la production des innombrables races et variétés de Levures qui se rencontrent dans les brasseries. Elles se sont lentement adaptées aux substances salines dissoutes dans les eaux employées pour faire la bière dans

chaque contrée. Les solutions sont ici très étendues, mais l'action du temps a suppléé à celle des fortes concentrations observées dans mes expériences. Cette adaptation des races de Levures est bien connue dans les localités où les eaux sont fortement chargées de carbonate ou de sulfate de chaux. Elle nécessite des soins particuliers toutes les fois que des races de Levure doivent se développer dans des eaux différentes de celles auxquelles elles sont habituées.

Il convient de faire observer que l'adaptation aux solutions concentrées n'est pas, dans le monde des microbes, propre aux Levures. Les travaux de M. J. Massart [1] l'ont mise en évidence chez les Bactéries et les Infusoires. Ces organismes s'habituent en peu de temps à des solutions de plus en plus concentrées et peuvent ainsi résister à des solutions beaucoup plus fortes que celles qui les environnent à l'état naturel. L'adaptation est due à la perméabilité du protoplasme pour les substances dissoutes. Vraisemblablement, il se forme, dans ces circonstances, de véritables races physiologiques analogues à celles que j'ai constatées chez la Levure de bière.

CHAPITRE VI.

EXPÉRIENCES SUR LA RÉSERVE HYDROCARBONÉE PRODUITE PAR LA LEVURE CULTIVÉE DANS DES SOLUTIONS SUCRÉES.

Est-il possible de déterminer la quantité de glycogène que renferme un poids de Levure riche en réserves nutritives? La réponse à cette question n'est pas des plus faciles. Il est indispensable, si l'on veut doser le glycogène en nature, de détruire les membranes cellulaires du champignon. Elles sont si résistantes que les réactifs qui les dissolvent attaquent en même temps la réserve hydrocarbonée et la transforment en produits sucrés. On ne peut non plus briser les membranes au moyen du pilon et extraire le glycogène par les procédés adoptés en physiologie animale. Beau-

[1] *Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines.* (Archives de Biologie, t. IX, 1889, et Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, t. IV.)

coup de cellules, je m'en suis assuré, résistent à ce traitement, quelle qu'en soit l'énergie. J'estime que cette difficulté n'est pas spéciale aux *Saccharomyces*, mais à tous les champignons.

Il fallait donc choisir une méthode indirecte capable de fournir des indications assez exactes sur la quantité de matières hydrocarbonées autres que la cellulose que renferme la Levure. Trois procédés étaient à ma disposition :

1° Transformer par un acide le glycogéne en sucre réducteur sans altérer les membranes;

2° Peser un poids de Levure bien nourrie, à réserves abondantes, épuiser par autophagie et déterminer la perte de poids;

3° Déterminer la quantité d'alcool produite par un poids de Levure soumise à l'autophagie et en déduire la quantité de matière sucrée consommée.

Aucun de ces procédés ne peut fournir des indications absolument précises relativement à la quantité de réserves hydrocarbonées contenues dans la cellule de Levure.

Pour le premier, on ne peut invoquer que des couches cellulosiques peuvent se trouver attaquées par les acides et donner également du sucre réducteur. Dans les phénomènes d'autophagie, il n'y a pas seulement que du sucre consommé, mais aussi une certaine quantité de matières albuminoïdes. Enfin le dosage de l'alcool ne peut jamais atteindre une précision très grande.

Remarquons encore que, par ces moyens, nous évaluons la réserve glycogénique, plus la proportion de sucre qui n'est pas encore ou qui n'est plus à l'état de glycogène.

Néanmoins, je me suis décidé à adopter les trois méthodes et à en comparer les résultats. Il s'en dégage, comme on va le voir, une notion suffisamment nette sur l'importance des réserves hydrocarbonées de la Levure.

Dans le chapitre précédent, j'ai signalé que les moûts qui renferment 10 à 15 °/₀ de saccharose sont les plus favorables à la formation de glycogène dans la Levure de Bruxelles. Cette notion acquise, il convenait de posséder quelques indications sur le temps nécessaire à l'accumulation et à la disparition de la réserve glycogénique à l'intérieur des cellules. Plusieurs expériences ont été établies dans ce but. Voici les résultats fournis par l'un de ces essais préliminaires.



Le 20 décembre 1887, à midi précis, je mets sur un dépôt épuisé de Levure 20 c. c. d'une solution à 10 °/₀ de saccharose ; après agitation, la culture est placée à la température de 28°.

Le même jour, à 5 heures du soir, la réaction du glycogène est très nette dans les cellules adultes qui ne sont pas trop âgées. Le lendemain, à 10 heures, il y a énormément de glycogène dans le dépôt. La même observation est faite le 22 et le 23 décembre. Le 24, à 5 heures, la quantité de glycogène à diminué ; la plupart des cellules les plus âgées des amas cellulaires n'en renferment plus ; au contraire, les cellules les plus jeunes se colorent par l'iode en rouge-brun assez foncé. Au début, c'était l'inverse : la coloration n'existait que dans les cellules les plus âgées de chaque groupe et faisait défaut aux cellules à l'état d'accroissement.

Les jours suivants, le glycogène ne disparaît pas entièrement, ce que j'attribue à l'influence de l'alcool produit par la fermentation. Pour m'en assurer, le 27 décembre au soir, je décante le liquide et je verse sur la Levure 20 c. c. de liquide de touraillons acide et sans sucre. Au bout de vingt-quatre heures, la quantité de glycogène a fortement diminué ; le 30, il n'y en a plus de traces.

A la suite de cet essai, j'ai conclu que la quantité de glycogène augmente graduellement dans les cellules de Levure, qu'elle diminue ensuite et disparaît lorsque l'énergie de la fermentation n'est pas diminuée par l'influence de l'alcool.

Les trois expériences dont je vais faire l'histoire détaillée montrent que le poids de la Levure varie aux différents moments de la fermentation.

Première expérience. — Le 27 décembre 1887, à 9 heures du matin, je mets 150 grammes de saccharose dans du liquide de touraillons de manière à obtenir 1 litre de mélange. J'y introduis 2 grammes d'acide tartrique et 25 grammes de Levure pressée de boulanger, qui ne contenait que des traces de fécule. Il est assez rare de rencontrer des échantillons de cette Levure qui soient aussi pauvres en matière amylacée.

L'échantillon que j'ai employé n'était souillé que par un petit nombre de bactéries et ne possédait pas de réserve glycogénique

appréciable. Il renfermait 68,8 °/₀ d'eau, soit, pour 25 grammes de poids frais, 7gr,8 de matière sèche.

Le matras est mis à l'étuve à 28°.

Après vingt-huit heures, la quantité de glycogène qu'il y a dans les cellules est énorme. Une goutte du liquide de culture, placée sur une lame, se colore par l'iode en rouge-brun très foncé.

A ce moment (28 décembre, à 1 heure), je mélange toute la masse en fermentation et je la partage en deux moitiés; l'une est filtrée et lavée sur filtre pesé, l'autre est additionnée de son volume d'eau distillée, puis replacée à l'étuve.

Dans la première moitié, je trouve :

Sucre réducteur.	2,38 °/₀
Saccharose	0,00 »
Alcool (en poids)	5,4 °/₀
Poids de la Levure	10gr,760.

Le 29 décembre, à 9 heures, les cellules renferment encore une assez grande quantité de glycogène. Je prends le liquide en fermentation, étendu d'eau la veille, et j'en fais deux portions égales; l'une est filtrée et je dose le sucre et l'alcool :

Sucre.	traces.
Alcool	3,1 °/₀
Poids de la Levure	4gr,8375

La seconde moité est additionnée de son volume de liquide de touraillons et replacée à 28°. A midi, l'iode ne donne plus de coloration que dans de rares cellules. A 2 heures, je filtre; le liquide de filtration renferme :

Sucre.	traces.
Alcool	1,7 °/₀

Le poids de la Levure est 4gr,808.

Comparons les poids des dépôts de Levure :

Dans la première moitié du liquide en fermentation (28 décembre, à 1 heure), 10gr,700.

Dans le troisième quart (29 décembre, à 9 heures), 4gr,8375.

Dans le quatrième quart (29 décembre, à 2 heures), 4gr,808.

Ces deux derniers poids additionnés nous donnent 9gr,6455, poids

dans lequel entre encore une petite portion de glycogène. Il vaut donc mieux adopter $4^{gr},808 \times 2 = 9^{gr},616$ pour avoir le poids de la Levure qui a perdu presque tout son glycogène.

$$10^{gr},760 - 9^{gr},616 = 1^{gr},144.$$

$10^{gr},760$ de levure gorgée de glycogène renfermaient donc $1^{gr},144$ de réserve hydrocarbonée, soit 10,63 °/₀.

Ce chiffre peut être considéré comme très rapproché de la vérité, parce que la faible quantité de matière albuminoïdes, qui aurait pu disparaître pendant l'autophagie, est compensée par le peu de glycogène resté dans le dépôt filtré le 29 décembre à 2 heures.

Cette première expérience prouve que la Levure perd de son poids à la fin de la fermentation. La deuxième expérience va démontrer les variations du poids de la Levure aux différents moments de la fermentation.

Deuxième expérience. — Le 1er janvier 1888, à 6 heures du soir, je prépare un mélange du liquide de touraillons, 120 grammes de saccharose et $2^{gr},4$ d'acide tartrique, de manière à obtenir un volume de 1200 c. c. Je la répartis aussi également que possible entre six matras de même forme et de capacité identique.

Je stérilise à la vapeur à 100°. Dans chaque matras, j'introduis 2 grammes de levure pressée, la même que dans l'expérience précédente, contenant 68,8 °/₀ d'eau, c'est-à-dire $0^{gr},624$ de matière sèche.

Pendant la nuit, je laisse les matras à basse température (2 à 3°C) afin de permettre la division des particules de la Levure et l'imbibition de toutes les cellules.

Le 2 janvier, à 9 heures du matin, je mets les six matras à l'étuve à 28°. De trois en trois heures, je retire un matras dont le contenu est filtré; le liquide sert au dosage du sucre réducteur, de la saccharose et de l'alcool. Quant au dépôt de Levure, il est lavé jusqu'à ce que l'eau ne donne plus de réaction des sucres, puis desséché et pesé.

Matras I. — Le 2 janvier, à midi, je retire un matras; le liquide de culture examiné au microscope montre des cellules en voie de croissance, mais peu riches en glycogène :

Poids de la Levure	0gr,702
Alcool (en poids)	1,1 %
Glycose.	4,9 »
Saccharose [1]	2,7 »

Matras II. — A 3 heures, étude d'un deuxième matras. Il y a beaucoup de glycogène dans les cellules :

Poids de la Levure.	0gr,717
Alcool	1,8 %
Glycose.	5,9 »
Saccharose	0,0 »

Comme on le voit, toute la saccharose était intervertie au bout de six heures.

Matras III. — A 6 heures, un troisième matras est retiré; l'iode colore les cellules en rouge-brun foncé.

Poids de la Levure.	0gr,7295
Alcool	2,3 %
Glycose.	4,9 »

Pendant la nuit, les trois matras qui restent sont mis à basse température (2 à 3°) afin de ralentir la fermentation.

Matras IV. — Le lendemain, à 9 heures, je les replace à l'étuve à 28°. Le même jour, à midi, un quatrième matras me donne :

Poids de la Levure.	0gr,752
Alcool	2,7 %
Glycose.	4,15 »

Il y avait dans le dépôt autant de glycogène que la veille au soir.

Matras V. — A 3 heures, le glycogène n'a pas sensiblement diminué dans les cellules du cinquième matras.

Poids de la Levure.	0gr,759
Alcool	2,9 %
Glycose.	3,6 »

Matras VI. — Le dernier matras a été retiré à 6 heures du soir. Dans le dépôt, la quantité de glycogène est moindre que dans les

[1] La saccharose est évaluée à l'état de sucre interverti.

matras observés précédemment, mais il y en a encore une quantité notable.

Poids de la Levure	0gr,7215
Alcool	3,0 °/o
Glycose	3,5 »

De cette expérience, il ressort, de la manière la plus évidente, que le poids de la Levure introduite en assez grande quantité dans un moût sucré augmente fortement pendant les trois premières heures. Cela est dû en grande partie à la croissance des cellules stimulée par l'oxygène renfermé dans le liquide.

Trois heures après l'introduction de la Levure dans le moût sucré, il existe déjà dans les cellules du glycogène en assez grande quantité. Pendant les douze heures suivantes, le poids de la Levure augmente graduellement, pour diminuer entre la quinzième et la dix-huitième heure.

Il n'est pas possible d'expliquer ce phénomène sans admettre que la seconde augmentation de poids doit être attribuée, en grande partie, à l'accumulation de glycogène dans les cellules.

Si, dans cette expérience, j'avais préparé deux ou trois matras en plus, j'aurais assurément vu le glycogène disparaître vers la vingt-quatrième heure, surtout si j'avais remplacé le liquide de fermentation par de l'eau distillée ou du liquide de touraillons non sucré.

La troisième expérience va nous donner des renseignements beaucoup plus complets.

Troisième expérience. — Le 20 octobre 1888, après midi, je prends 20 grammes de Levure de bière pressée, provenant de brasserie; elle était relativement très pure et absolument dépourvue de fécule. Dans les cellules, je trouve un peu de glycogène.

Je délaye cette levure dans du liquide de touraillons pour faire exactement 200 c. c., et je mets le matras à l'étuve à 20-22°. Afin de faciliter la désagrégation des grumeaux formés par la levure, j'agite le contenu du vase toutes les demi-heures.

En même temps, je dessèche 10 grammes de cette Levure pour évaluer la quantité de matière sèche qu'elle renferme; je trouve 2gr,276.

Deux grammes de Levure fraîche sont délayés dans 200 c. c. d'eau distillée, à laquelle j'ajoute 5 c. c. d'acide sulfurique concentré. Je m'étais assuré au préalable que l'ébullition, pendant environ cinq heures, avec l'acide ainsi dilué saccharifie les réserves de glycogène, mais respecte les membranes cellulaires. Une concentration plus forte en provoque la désagrégation.

Après cinq heures d'ébullition du mélange indiqué, j'ai dosé le sucre que contenaient les 2 grammes de Levure fraîche : $0^{gr},086$, c'est-à-dire 18,9 % du poids sec, $0^{gr},4552$. Il en est souvent ainsi des Levures de brasserie, qui, à cause de l'influence de l'alcool des bières, ne peuvent digérer les derniers restes de leurs réserves hydrocarbonées.

Les 20 grammes de Levure délayés dans les 200 c. c. le liquide de touraillons contiennent donc $0^{gr},860$ de réserve hydrocarbonée.

Le 20 octobre, à 6 heures du soir, je verse les 200 c. c. de mélange préparé quelques heures auparavant dans 800 c. c. du liquide de touraillons avec 15 % de saccharose. Le tout constitue 1 litre de liquide et renferme 12 % de sucre. Ce mélange est placé pendant la nuit à 28° jusqu'au lendemain, à 8 heures du matin. Il est alors fortement agité pour en rendre la composition bien homogène. Les cellules de la Levure sont littéralement bourrées de glycogène.

Les 1000 c. c. du moût en fermentation sont répartis en dix portions aussi égales que possible. Les cinq premières sont retirées à 8 ½ heures du matin.

Première portion. — Elle est filtrée, lavée à plusieurs reprises avec de l'eau distillée; puis la Levure est délayée dans 100 c. c. d'eau distillée, abandonnée pendant la nuit à la température de 8 à 12° dans le but de doser le sucre qui aurait pu diffuser au travers des membranes cellulaires. Le 22 octobre, à 10 heures, je trouve dans le liquide 0,1 % de sucre et 0,05 % d'alcool. Trois jours plus tard, tout le sucre a disparu et le liquide renferme 0,1 % d'alcool en poids. La Levure desséchée pèse $0^{gr},464$.

Deuxième portion. — La deuxième portion est d'abord traitée de la même manière que la première, puis placée à 28° pour servir à une expérience d'autophagie. Le 22, au matin, les cellules sont encore très riches en glycogène; celui-ci a complètement disparu le lendemain et je trouve :

Poids de la Levure	$0^{gr},4625$
Alcool	0,1 %
Sucre.	0,00

Troisième et quatrième portions. — 200 c. c. sont filtrés et la Levure, après lavage, est délayée dans 200 c. c d'eau distillée; j'y ajoute 5 c. c. d'acide sulfurique, puis je fais bouillir pendant cinq heures Les membranes cellulaires ont résisté à ce traitement et présentent dans leur intérieur des corpuscules brillants, assez volumineux, constitués sans doute par les débris d'albuminoïdes. La liqueur donne avec la liqueur de Fehling $0^{gr},41$ de sucre (pour 4 grammes de Levure fraîche).

Cinquième portion. — Celle-ci, le 21 octobre, à 8 ½ heures, est filtrée, lavée et desséchée afin de déterminer le poids de la Levure gorgée de glycogène.

Poids de la Levure	$0^{gr},647$
Alcool (en poids)	2,4 %
Glycose.	6,9 »

Sixième portion. — A 11 ½ heures, je prélève 100 nouveaux centimètres cubes :

Poids de la Levure	$0^{gr},689$
Alcool	2,65 %
Glycose.	6,4 »

Septième portion. — A 2 ½ heures, la septième portion donne :

Poids de la Levure.	$0^{gr},6635$
Alcool	3,0 %
Glycose.	5,6 »

Huitième portion. — A 5 ½ heures, nouveau prélèvement :

Poids de la Levure	$0^{gr},657$
Alcool	3,2 %
Glycose.	5,2 »

Pendant la nuit, le matras est mis à l'étuve à 28°. Le lendemain, à 8 heures du matin, la quantité de glycogène dans les cellules est toujours considérable.

Neuvième portion. — 100 c. c. prélevés le 22 octobre, à 8 ½ heures du matin, donnent :

Poids de la Levure	0gr,6555
Alcool	4,3 %
Glycose	2,8 »

DIXIÈME PORTION. — La dixième portion est transvasée dans un matras plus petit pour éviter une aération très abondante et, par suite, une multiplication cellulaire trop active. Elle restera à 28° jusqu'à ce que le glycogène ait disparu de la majeure partie des cellules.

Le 25 octobre, beaucoup de glycogène persiste dans les cellules. Je filtre pour séparer la Levure, que je délaie dans 100 c. c. d'eau pure afin de hâter la consommation des dernières réserves. Dans le liquide filtré, il y a :

Alcool	5,4 %
Sucre	0,2 »

Le 28 octobre, à 6 heures du soir, je filtre le mélange d'eau et de Levure ;

Poids de la Levure	0gr,467
Alcool	0,1 %

De cette troisième expérience, il ressort de la façon la plus évidente que la Levure peut accumuler des réserves glycogéniques très importantes.

J'ai obtenu comme poids de Levure, privée de réserve par autophagie, les chiffres suivants : 0gr,464, 0gr,4625 et 0gr,467, soit, comme moyenne, 0gr,4645.

Les 2 grammes de Levure fraîche originelle qui correspondent à chaque portion représentaient 0gr,4552 de matière sèche. Ce poids de Levure ne s'est presque pas accru dans le milieu sucré. Cela s'explique fort bien, si l'on réfléchit que la Levure a dû perdre de son poids par suite de l'épuisement de sa réserve hydrocarbonée primitive. L'accroissement cellulaire aura simplement compensé cette diminution avec une légère augmentation de poids. Quoi qu'il en soit, pendant son immersion dans le moût sucré, la Levure a fait une abondante réserve hydrocarbonée, qui, après dix-sept heures, portait le poids à 0gr,689. Cette réserve diminue bientôt insensiblement et ne disparaît que lorsque la Levure est plongée dans de l'eau distillée.

La quantité de réserves hydrocarbonées ainsi accumulée à l'intérieur des cellules est égale à

$$0^{gr},689 - 0^{gr},4645 = 0^{gr},2245.$$

Cette proportion concorde avec la quantité d'alcool ($0^{gr},1$) donnée par les essais d'autophagie, ainsi qu'avec la quantité de sucre ($0^{gr},205$) trouvée dans la Levure attaquée par l'acide sulfurique. Les variations entre ces différents chiffres sont inférieures aux limites d'approximation des méthodes d'analyse de l'alcool et du sucre. Nous pouvons donc adopter la différence signalée dans les pesées, et qui correspond au poids de réserve hydrocarbonée, comme très rapprochée de la vérité. Dans ce poids intervient cependant une certaine portion de sucre qui, malgré les lavages répétés des dépôts de levure, est retenue par le protoplasme.

Comparée au poids de la Levure, la quantité de réserves constatée dans l'expérience actuelle en représente :

$$\frac{2245}{6890} \text{ ou } 32,58 \text{ °/o}.$$

C'est le chiffre le plus élevé que j'ai observé dans la suite de ces études.

Dans mes évaluations de glycogène, j'ai omis à dessein de distinguer la quantité de sucre intracellulaire qui n'est pas encore ou qui n'est plus à l'état de glycogène. Est-il possible de fixer les idées sur la proportion de glycose qui existe ainsi dans la Levure? A première vue, il pourrait paraître bien facile de la débarrasser de cette matière par des lavages répétés. Mais elle y résiste par suite des propriétés du protoplasme vivant. Il est donc indispensable de tuer les cellules au moyen d'un procédé qui ne modifie pas la réserve glycogénique. Voici le procédé que j'ai adopté : après lavages répétés à l'eau distillée, le dépôt de Levure est délayé dans une petite quantité d'eau, puis est placé pendant dix minutes dans un bain de vapeur d'eau à 100°. Le tout est ensuite filtré, lavé à l'éther pour enlever les matières grasses et faciliter l'action dissolvante de l'eau sur le contenu des cellules.

Le 22 mai 1889, à 6 heures du soir, 5 grammes d'une Levure sèche assez riche en glycogène sont ainsi délayés dans 150 c. c. d'une solution de saccharose à 15 °/o.

Cinq grammes de la même Levure m'avaient donné $1^{gr},305$ de matière sèche.

Le 23 mai, à 9 heures du matin, les cellules de Levure, mises en culture la veille, étaient bourrées de glycogène. J'ai filtré le liquide en fermentation et lavé jusqu'à disparition de traces de glycose dans l'eau de lavage. Je m'en assurai au moyen de la liqueur de Fehling. La Levure a été ensuite tuée par la vapeur d'eau à 100°, puis lavée à l'éther et à l'eau. J'ai trouvé dans le liquide $0^{gr},126$ de sucre interverti, c'est-à-dire une quantité de sucre égale à environ 10 °/₀ du poids sec de la Levure. J'admets que celui-ci n'avait pas varié d'une manière sensible dans cette expérience comme dans les recherches sur la quantité de glycogène.

Vingt grammes de la même Levure ont ensuite été partagés en quatre portions que je désignerai par les numéros I, II, III et IV.

La portion I est délayée dans un peu d'eau et bouillie ensuite pendant cinq heures avec de l'acide sulfurique à 5 °/₀. J'ai trouvé $0^{gr},19$ de sucre, soit $^{190}/_{1305}$ ou 14,5 °/₀ de réserve hydrocarbonée totale.

La portion II est tuée à 100°, filtrée, lavée à l'éther et à l'eau. L'eau de lavage renferme $1^{gr},125$ de sucre ou 9,65 °/₀.

Quant aux portions III et IV, elles furent chacune mélangées à 100 c. c. de liquide de touraillons additionné de 12 °/₀ de saccharose. Après vingt-quatre heures de séjour à 22-24°, il y avait énormément de glycogène dans les cellules.

La portion III fut filtrée, lavée à l'eau jusqu'à épuisement du sucre d'imbibition; le filtre est mis dans la vapeur à 100°, lavé à l'éther et à l'eau distillée. J'ai dosé $0^{gr},136$ de sucre interverti, soit 10,42 °/₀.

Enfin la portion IV, soumise à l'ébullition avec l'acide sulfurique, a donné $0^{gr},407$ de sucre, ce qui correspond à environ 31,2 °/₀.

D'après les trois dosages dont je viens d'indiquer le détail, la Levure de bière renferme environ 10 °/₀ de glycose à l'état soluble dans le suc cellulaire. J'estime cependant que ce chiffre n'est pas assez élevé, car, dans un dépôt de Levure, il existe toujours un certain nombre de cellules arrivées au terme de leur activité et

qui ne peuvent retenir le sucre avec l'énergie propre aux cellules moins âgées.

D'autre part, deux autres causes ont dû influencer les résultats que j'ai observés. En premier lieu, les lavages à l'eau auxquels je soumettais le dépôt pour le débarrasser du sucre retenu par simple adhérence ont pu enlever du sucre intracellulaire. Il faut encore tenir compte du sucre qui, après chauffage à 100° et les lavages répétés, doit persister dans la Levure en vertu des mêmes phénomènes d'adhérence.

Pour ces raisons, j'admets que la proportion de sucre dissous, qui existe dans la Levure bien nourrie au moment où elle fabrique du glycogène, est de 11 à 12 %. Nous savons déjà que ce chiffre est très rapproché de celui qui correspond à la concentration du liquide extérieur la plus favorable à la vie de la Levure.

Lorsque la réserve hydrocarbonée totale est équivalente à 31,2 et 32,58 % de la matière sèche, la proportion de glycogène s'élève à environ 20 %. Jusqu'ici aucune réserve glycogénique aussi forte n'a été signalée chez les Champignons, les Myxomycètes, ni chez les animaux. Les chiffres les plus élevés se rapportent au foie des poissons observé en hiver : d'après M. von Wittich [1], on y trouve 11,7 à 15,6 % de glycogène pour la Tanche, 7,6 à 8,9 % pour la Carpe. MM. Reinke et Rodewald [2] en indiquent 4,73 % dans le protoplasme du *Fuligo varians* (*Æthalium septicum*). D'après M. Errera [3], le *Clitocybe nebularis* contient 8 % de substance sèche et le glycogène en forme au moins la centième partie.

Cependant, le chiffre que j'indique est encore bien éloigné des quantités de matière amylacée que contiennent les graines et surtout les tubercules des plantes vasculaires. Ainsi : on indique dans les graines du Froment 61,8 parties d'amidon pour 86 de matière sèche ou 71,86 %; dans les tubercules de la Pomme de terre, il y

---

[1] Cité par Beaunis, *Physiologie humaine*, 3e édition, p. 116.

[2] *Studien über das Protoplasma*. (UNTERS. AUS DEM BOTAN. LABOR. ZU GÖTTINGEN, Heft II, 1881.)

[3] D'après une communication verbale.

a 20,6 parties d'amidon pour 25 parties de matière sèche ou 82,4 °/₀.

L'accumulation de glycogène dans la Levure complète l'histoire des phénomènes d'autophagie signalés à diverses reprises. Cet hydrate de carbone existe souvent en assez grande abondance dans les Levures qui proviennent des brasseries. Ainsi s'expliquent certains résultats observés jadis par M. Pasteur et M. Duclaux. Ces savants avaient constaté que lorsqu'on emploie un poids de Levure supérieur à 15 °/₀ du poids de sucre à faire fermenter, on recueille après la fermentation moins de Levure que l'on en avait mis. La différence correspond aux matières dissoutes qui ont traversé les membranes cellulaires et surtout aux substances hydrocarbonées utilisées par la respiration de la Levure.

CHAPITRE VII.

LE GLYCOGÈNE CHEZ LES DIVERSES LEVURES ET FORMES-LEVURES.

Le glycogène n'existe pas seulement chez la race de Levure que j'ai étudiée d'une manière particulière. J'ai eu l'occasion de l'observer dans les Levures les plus diverses que j'ai cultivées depuis quelques années. Les réactions sont des plus nettes avec des colonies obtenues sur moût de bière gélatinisé.

Voici l'énumération des Levures et formes-Levures chez lesquelles j'ai noté la présence du glycogène :

Une vingtaine de races de Levure de bières hautes et basses de Belgique, de Hollande, d'Angleterre, d'Allemagne, de France et de Danemark;

Plus de trente races de Levures de vin de Huy, de Champagne, de Bourgogne, du Midi de la France, d'Espagne, etc.;

Levures de cidre de Normandie et de fruits de *Malus baccata;*

Levures d'hydromel de Belgique;

Un grand nombre de formes-Levures et de Levures observées sur les fruits sucrés (raisins de table, groseilles, etc.).

Formes-Levures de *Cladosporium herbarum;*
— — roses de l'air (diverses races);
— — d'*Oidium lactis* et diverses autres races trouvées à la surface des liquides sucrés exposés à l'air.

Formes-Levures d'*Ustilago Carbo*, d'*U. olivacea*, d'*U. antherarum.*

Formes-Levures mycodermiques des bières et des vins *Saccharomyces Mycoderma* ou *Mycoderma cerevisiæ* et *vini*).

Mycolevure et Levure de lactose de M. Duclaux.

Beaucoup de ces Levures et formes-Levures ont été cultivées dans des milieux liquides naturels ou artificiels. Je crois inutile d'entrer à ce sujet dans de grands détails.

Plusieurs Levures de bière et de vin ont donné des résultats absolument comparables à ceux que j'ai observés avec la Levure de Bruxelles (assimilation des acétates, lactates, tartrates, etc.).

Il y a lieu de faire une mention spéciale pour la forme-Levure de *Cladosporium herbarum* (*Dematium pullulans*), qui a été cultivée dans toutes les solutions artificielles indiquées au chapitre III. Il est remarquable de constater que tous les corps nutritifs pour la Levure de bière le sont également pour cette forme-Levure. Le parallélisme le plus complet existe pour tous les résultats observés dans mes essais sur l'alimentation de ces deux organismes, essais qui ont toujours été simultanés et comparatifs. La seule différence observée est relative à la capacité d'assimilation plus prononcée chez la forme-Levure pour les aliments peu favorables comme les acétates, les lactates, la gélatine pure. Elle s'y développe plus rapidement que les Levures et y donne des dépôts plus abondants.

CHAPITRE IX.

RÉSULTATS GÉNÉRAUX DES RECHERCHES SUR LA NUTRITION DES LEVURES.

Les faits consignés dans les chapitres précédents peuvent être résumés de la manière suivante :

1° *Les Levures de bière, de vin, de cidre, d'hydromel et un grand nombre de formes-Levures peuvent former des réserves de glycogène.*

2° *La Levure de bière peut emprunter sa matière hydrocarbonée aux corps suivants :*

Acétates.
Glycol éthylénique.
Acide glycolique et glycolates.
Acide lactique et lactates.
Malonate de potassium.
Acide succinique et succinate d'ammoniaque.
Pyrotartrate de potassium.
Glycérine.
Glycérates.
Acide malique et malates.
Érythrite.
Acide tartrique et tartrates.
Acide citrique et citrates.
Quercite.
Mannite.
Glycoses.
Saccharoses.
Empois d'amidon et amidon soluble.
Gélose.
Lichénine.
Glycogène.
Gomme arabique.
Érythrodextrine et dextrine.
Saccharate de potassium.
Acide mucique.
Acide fumarique.
Leucine.
Acide aspartique et glutamique.
Asparagine et glutamine.
Salicine, amygdaline, esculine, coniférine, arbutine.
Saponine.
Atropine, colchicine.
Gélatine.
Albumine de l'œuf.
Caséine.
Peptone et caséone

3° *La Levure de bière a produit du glycogène aux dépens de :*

Lactates.
Acide succinique et succinates.
Glycérine.
Acide malique et malates.
Mannite.
Glycoses.
Saccharoses.
Glycogène.
Gomme arabique.
Érythrodextrine et dextrine.
Acide mucique.
Asparagine, glutamine.
Salicine, amygdaline, et quelques autres glycosides.
Albumine de l'œuf.
Peptone et caséone.

4° *La Levure n'a pas assimilé :*

Alcool méthylique.
— éthylique.
— propylique.
— butylique.
Éther éthylique.
— acétique.
Aldéhyde acétique.
Paraldéhyde.
Hydroquinone.
Phloroglucine.
Quinone.
Saligénine.
Benzoates.
Saccharine.
Salicylates.
Gallates et tannate d'ammoniaque.

Acide formique et formiates.
— propionique et propionates.
— butyrique et butyrates.
— valérianique et valérianates.
Stéarate de potassium.
Alcool allylique.
Oléate de potassium.
Acide oxalique et oxalate.
Méthylamine, éthylamine, propylamine.
Glycocolle.
Hippurate de sodium.
Formamide, acétamide.
Urée.
Phénol.
Acide picrique.
Acide digallique (tannin).
Aniline et chlorure d'aniline.
Diphénylamine.
Chlorhydrate de naphtylamine.
— de phénylhydrazine.
Phloridzine.
Pyridine.
Chlorhydrate de cocaïne.
— de morphine.
— de strychnine.
— de brucine.
Caféine.
Sulfate neutre de quinine.
— de cinchonamine.
Nucléine.

5° *Introduite en assez grande quantité dans un moût sucré, la Levure augmente de poids par suite de l'accroissement cellulaire; puis elle accumule une réserve hydrocarbonée formée par du glycogène et qui peut égaler le cinquième du poids sec. Plus tard, cette réserve disparaît et sert à la fermentation alcoolique.*

6° *Des solutions trop concentrées d'acides, de sucres, d'alcool et de matières salines sont nuisibles au développement de la Levure et à la fermentation alcoolique.*

7° *La Levure s'habitue graduellement aux doses relativement élevées d'alcool et de matières salines et, vraisemblablement, de sucres et d'acides.*

8° *Non seulement la Levure est sensible à la proportion de matières salines dissoutes dans le milieu extérieur, mais sa descendance reste impressionnée par la nature même des sels avec lesquels elle a été mise en présence.*

Travail fait au Laboratoire de physiologie végétale de l'Université de Bruxelles et au Laboratoire de chimie biologique de la Sorbonne, à Paris.

ÉTUDE CHIMIQUE

DU

GLYCOGÈNE

CHEZ

LES CHAMPIGNONS ET LES LEVURES

PAR

G. CLAUTRIAU

Docteur en sciences naturelles,
Assistant à l'Institut botanique (Université de Bruxelles) [1].

I

APERÇU HISTORIQUE.

Depuis sa découverte par Claude Bernard [2], en 1857, le glycogène a fait l'objet de très nombreuses recherches, qui se rapportent pour la plupart au règne animal. Sa présence a été constatée aussi bien chez les êtres inférieurs que chez les vertébrés supérieurs. Partout on le retrouve présentant des caractères analogues; et cette grande diffusion, ainsi que sa nature chimique et son rôle

---

[1] Ce travail a paru dans les *Mémoires couronnés et autres mémoires* in-8 de l'Académie royale de Belgique, t. LIII, 1895.

[2] Claude Bernard, *Sur le mécanisme physiologique de la formation du sucre dans le foie* (Comptes rendus, 1857, t. XLIV, p. 578). L'existence de la substance glycogénique avait déjà été annoncée dans son premier mémoire (Comptes rendus, 1855, t. XLI, p. 461).

physiologique, lui ont fait souvent donner le nom d'amidon animal.

Ce terme semblerait impliquer que le glycogène est l'apanage du règne animal, dont il représente l'hydrate de carbone de réserve par excellence, comme l'amidon proprement dit constitue chez la plupart des végétaux la forme sous laquelle s'accumulent les aliments hydrocarbonés.

Toutefois, l'amidon lui-même n'est pas présent dans toutes les plantes et ne pourrait, à lui seul, servir à caractériser le règne végétal.

Déjà, chez un certain nombre de phanérogames, il peut n'apparaître qu'exceptionnellement (*Musa, Strelitzia, Allium*), ou même manquer complètement (*Monotropa Hypopitys*), et si on le rencontre encore chez la plupart des Algues vertes, par contre les Algues rouges et brunes en sont totalement dépourvues.

Il existe aussi toute une classe de végétaux qui ne forment jamais d'amidon : c'est la classe des Champignons. Parfois on a signalé chez quelques-uns des granules ou des épaississements de membranes se colorant en bleu par l'iode, mais on sait actuellement que cette teinte est due, non pas à de l'amidon véritable, mais très probablement à de l'isolichénine.

Les Champignons peuvent renfermer différentes matières hydrocarbonées, de la mannite, de la tréhalose, etc. [1], mais l'hydrate de carbone, qui, chez un très grand nombre d'espèces, représente d'une manière typique l'aliment ternaire de réserve, n'est autre que le glycogène, identique à celui que l'on a extrait des tissus des animaux.

Longtemps méconnue, l'existence du glycogène chez les végétaux a été établie de façon positive par les travaux d'Errera [2].

---

[1] BOURQUELOT, *Les hydrates de carbone chez les Champignons* (BULL. DE LA SOC. MYCOL. DE FRANCE, 1890).

[2] L. ERRERA, *L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux*. Thèse, Bruxelles, 1882. — *Sur le glycogène chez les Mucorinées* (BULL. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, novembre 1882, 3e série, t. IV, no 11). — *Sur le glycogène chez les Basidiomycètes* (BULL. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, 1884, 3e série, t. VIII, no 12, et MÉM. in-8o, 1885, t. XXXVII). — Ces travaux sont reproduits dans le présent tome I du RECUEIL DE L'INST. BOT.



Avant lui, en 1868, Kühne [1] avait signalé la présence de glycogène chez un Myxomycète, l'*Aethalium septicum*, et les recherches de Behrend [2] avaient montré son analogie complète avec le glycogène du foie. Mais les Myxomycètes sont des êtres à caractères très peu définis et qui, dans la classification générale, occupent une place intermédiaire entre les végétaux et les animaux. Le fait qu'ils renferment un hydrate de carbone semblable à celui des animaux devait fournir plutôt un argument en faveur de la nature animale de l'*Aethalium septicum* qu'une preuve de la présence de glycogène chez un végétal.

Dans son premier travail, Errera, reprenant les observations déjà anciennes de Tulasne [3] sur le contenu des asques des Truffes, et celles plus récentes de de Bary [4] sur l'épiplasme des Ascomycètes, montra que les colorations brun-rouge obtenues par ces deux auteurs au moyen de l'iode étaient dues à la présence d'un corps dont les caractères microchimiques et macrochimiques répondaient exactement à ceux du glycogène animal typique.

La quantité des produits extraits par Errera était trop minime pour en faire l'analyse immédiate et en déterminer exactement le pouvoir rotatoire, ainsi que l'eût désiré Morren [5]; mais les caractères physiques et chimiques observés montraient une telle concordance entre les deux glycogènes, que ceux-ci pouvaient être considérés, et avec raison, comme identiques. Cette conclusion fut acceptée, sans restriction, par Stas [6] et par Gilkinet [7].

Quelques années plus tard, Krafkoff [8], reprenant la question du

---

[1] W. Kühne, *Lehrbuch der physiologischen Chemie*, 1868, S. 334.

[2] Behrend, cité dans Krukenberg, *Vergleichende physiol. Studien*, Zweite Abtheilung. Heidelberg, 1880, S. 55.

[3] L.-R. Tulasne et C. Tulasne, *Fungi hypogæi*. Paris, 1851.

[4] de Bary, *Ueber die Fruchtentwickelung der Ascomyceten*. Leipzig, 1863, S. 8.

[5] Morren, *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1884, 3e série, t. VIII, no 12.

[6] Stas, *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1884, 3e série, t. VIII, no 12.

[7] Gilkinet, *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1884, 3e série, t. VIII, no 12.

[8] Krafkoff, *Zur Frage vom Glykogen der Pilze* (Scripta botanica horti universitatis Imperialis Petropolitanae, t. III, fasc. I, p. 17).

glycogène chez les Champignons, vérifia les résultats signalés plus haut et admit également la similitude des deux glycogènes.

Un certain nombre d'autres travaux ont été publiés sur cette question. Leurs auteurs ont vérifié microchimiquement la présence du glycogène chez les Champignons, mais aucun ne s'est occupé de l'étude chimique de ce corps, et, dans ces conditions, nous croyons inutile de faire mention de leurs recherches.

Quoique les Levures (*Saccharomyces*) appartiennent à la classe des Champignons et doivent, selon toute vraisemblance, être rattachées aux Ascomycètes, nous consacrerons à leur étude un chapitre spécial.

L'extraction de leur glycogène nécessite, en effet, un traitement tout particulier sur lequel nous aurons à revenir plus loin.

La présence de glycogène typique chez ces organismes, signalée pour la première fois par Errera [1], a été confirmée à plusieurs reprises. Avant cet auteur, de nombreux travaux avaient paru sur les matières ternaires des Levures. Pasteur [2], Schützenberger et Destrem [3] avaient déduit de leurs expériences qu'elles devaient renfermer un hydrate de carbone facile à saccharifier; Béchamp [4] en avait extrait une « matière gommeuse » que Nägeli et Loew [5] avaient étudiée et qui, d'après la démonstration d'Errera, doit être envisagée comme un mélange de glycogène et d'une sorte de gomme.

Salkowski [6] a retiré de la Levure un corps présentant les caractères du glycogène, mais qu'il a le tort de considérer, sous l'influence des idées de Nägeli, comme dérivant de la membrane.

---

1 L. Errera, *Sur l'existence du glycogène dans la Levure de bière* (Comptes rendus, 1885, t. CI, p. 253, ou Rec. Inst. bot., t. I).

2 Pasteur, *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 640.

3 Schützenberger et Destrem, *Comptes rendus*, t. LXXXVIII, p. 289.

4 Béchamp, *Comptes rendus*, t. LXXIV, p. 187.

5 Nägeli et Loew, *Sitzungsb. Akad. München*, 1878, Bd VIII, S. 166.

6 E. Salkowski, *Ueber fermentative Processe in den Geweben* (Du Bois-Reymond's Archiv, 1890, S. 554).

Laurent [1], dans ses intéressantes recherches physiologiques sur les Levures, a essayé de doser la proportion de glycogène qu'elles renferment. Il n'en a pas effectué l'extraction, et ses dosages, faits par des méthodes indirectes, ne suffisent pas moins à montrer la grande richesse de ces organismes en cet hydrate de carbone.

Cremer s'est occupé à plusieurs reprises de l'extraction du glycogène chez la Levure [2]. Il a publié cette année une courte note [3] dans laquelle il annonce avoir pu extraire une certaine quantité d'un produit présentant tous les caractères du glycogène typique. Il ne donne pas le détail de ses recherches, mais sa conclusion générale est complètement d'accord avec celle d'Errera.

Cette note de Cremer a été suivie d'un travail d'Alfred Koch et Hosaeus [4], dans lequel ces auteurs mentionnent une extraction de glycogène de Levure sur laquelle nous aurons à revenir ultérieurement.

II

EXTRACTION CHEZ LES CHAMPIGNONS.

Choix des matériaux. — Un très grand nombre de Champignons renferment du glycogène, mais tous ne conviennent pas également pour une extraction chimique de ce produit. Parfois, il ne se trouve qu'en minime quantité; ou même, s'il existe en abondance chez certaines espèces, celles-ci sont ou petites ou rares.

---

[1] E. LAURENT, *Recherches physiologiques sur les Levures* (ANN. DE LA SOC. BELGE DE MICROSCOPIE, t. XIV, chap. VI, ou, ci-dessus, dans le présent RECUEIL).

[2] M. CREMER, *Ueber die Umlagerungen der Zuckerarten unter dem Einflusse von Ferment und Zelle* (ZEITSCHR. F. BIOLOGIE, Bd XXXI, Heft 2).

[3] M. CREMER, *Demonstration des Hefeglykogens in den Zellen und als Präparat* (MÜNCHENER MEDICIN. WOCHENSCHRIFT, 1894, Nr 26).

[4] ALFRED KOCH et HANS HOSAEUS, *Das Verhalten der Hefen gegen Glycogen* (CENTRALBL. F. BAKTERIOL. UND PARASITENKUNDE, 1894, Bd XVI, Nrn 4-5).

Un autre inconvénient provient de la nature physiologique du glycogène. Ce corps joue le rôle d'une substance de réserve destinée à être surtout utilisée au moment de la grande croissance ou au moment de la maturation des spores. La croissance se faisant rapidement chez certains Champignons, il arrive parfois qu'en très peu de temps, toute la réserve glycogénique a été utilisée par le végétal. Ce cas se présente d'une façon caractéristique chez le *Phallus impudicus*, où le pédicelle, avant l'allongement, est bourré de glycogène, tandis qu'immédiatement après, il n'en renferme plus que des traces [1].

En règle générale, le glycogène n'existe pas dans les stades les plus jeunes ni dans la période avancée de la végétation; mais pour la récolte de chaque espèce, il est prudent de rechercher et de déterminer le moment réellement opportun.

La même chose se présente avec le glycogène animal. Le foie des animaux en contient des quantités très variables suivant l'alimentation et suivant le moment auquel on examine cet organe.

Nos recherches ont d'abord porté sur *Boletus edulis*, qui croît très abondamment en certains endroits aux environs de Bruxelles. On doit le récolter de préférence au moment où le chapeau va s'épanouir, et il faut choisir les gros exemplaires, qui sont généralement plus riches en glycogène. Il est facile de s'assurer d'ailleurs, par la réaction de l'iode, qu'à ce stade tout le pied en est rempli. Après la récolte, chaque échantillon est examiné séparément par l'iode, et l'on écarte ceux qui ne donnent qu'une faible réaction.

Si le Bolet possède le grand avantage de renfermer une forte proportion de glycogène, il présente toutefois un inconvénient très sérieux : ses cellules contiennent une quantité considérable de mucilages qui rendent l'extraction des plus pénibles et dont la séparation nous a demandé de longues recherches.

L'*Amanita muscaria*, que l'on peut récolter en quantité certaines

[1] La marche de ce phénomène a été suivie très minutieusement et décrite en détail par Errera dans son étude *Sur le glycogène chez les Basidiomycètes*, pp. 46-54 du tiré à part (ou, ci-dessus, pp. 105-113).

années, est aussi un matériel très convenable pour l'extraction du glycogène. On doit le choisir encore jeune, au moment où le pied est très renflé et sur le point de s'allonger. Ainsi que chez le Bolet, les gros exemplaires sont plus riches proportionnellement que les individus plus petits pris au même stade de développement. L'*Amanita* présente sur le Bolet un avantage considérable au point de vue de la facilité de l'extraction : il renferme très peu de matières mucilagineuses et ne donne pas les liquides épais, impossibles à filtrer, que l'on ne peut éviter avec le Bolet. Un léger inconvénient provient de substances brunes qui se forment par l'oxydation de certains produits de ce Champignon et qui se fixent énergiquement sur le glycogène, nécessitant un traitement spécial, ainsi que de nombreuses précipitations successives par l'alcool, avant d'obtenir un produit tout à fait blanc et pur.

Le *Phallus impudicus*, comme nous l'avons dit plus haut, est très riche en glycogène. Pour l'extraction, on sépare le pédicelle jeune, peu avant l'allongement, et on le prive le plus possible de sa couche gélatineuse, en le frottant, au moyen d'une brosse, sous un filet d'eau.

Le pédicelle du *Phallus* donne un fort rendement en glycogène. Malheureusement, ce Champignon ne croît jamais en abondance. Le poids de son pédicelle au stade le plus favorable à l'extraction du glycogène est très faible; ce qui oblige à réunir un nombre considérable d'exemplaires, afin de pouvoir en extraire la quantité de produit nécessaire aux divers essais chimiques auxquels on doit le soumettre.

Un certain nombre d'autres Champignons [1] pourraient également servir à l'extraction du glycogène, mais nous ne citons ici que les espèces que nous avons utilisées et que nous pouvions récolter en grande quantité.

Il ne faut pas oublier que les Champignons renferment une

[1] Par exemple, *Peziza vesiculosa*, qui est exempt de mucilage, *Clitocybe nebularis*, etc. Les matériaux conservés dans l'alcool fort gardent tout leur glycogène.

quantité considérable d'eau : en général, de 90 à 95 °/₀ de leur poids à l'état frais. La faible teneur en substance sèche et les pertes inévitables au cours de l'extraction et surtout de la purification exigent la mise en œuvre d'un poids notable de tissus frais. Dans nos recherches sur le Bolet, recommencées un certain nombre de fois, nous opérions en général sur 5 ou 10 kilogrammes de Champignons frais; 10 kilogrammes d'*Amanita muscaria* ont également été mis en œuvre pour l'extraction de leur glycogène.

Traitement préalable des Champignons. — Les matériaux destinés à l'extraction du glycogène doivent être soumis, immédiatement après la récolte, à l'action de la chaleur.

Quoique nos connaissances sur la présence, dans les cellules des Champignons, de zymases pouvant dédoubler le glycogène soient encore très incomplètes, nous devons, par mesure de prudence, empêcher aussi rapidement que possible leur action éventuelle. Chez le *Phallus*, par exemple, cette précaution est très nécessaire, car, même détaché de son mycélium, ce Champignon continue sa croissance, grâce à la grande quantité d'eau contenue dans ses couches mucilagineuses, et peut, en moins d'un jour, dédoubler et utiliser tout son glycogène pour l'allongement de son pédicelle.

Le Bolet, au contraire, peut être abandonné à l'air assez longtemps (parfois près de huit jours dans nos expériences), sans que la quantité de glycogène semble diminuer. Dès qu'il est détaché du mycélium, toute croissance paraît être suspendue, et le Champignon se dessèche plus ou moins lentement. Lorsque les tissus deviennent mous, sans turgescence, et sont envahis par des moisissures, alors seulement le glycogène diminue peu à peu.

Nous voyons ainsi, chez les végétaux, des phénomènes analogues à ceux qui se passent chez les animaux. Dans l'extraction du glycogène, on recommande expressément de traiter sans retard, après la mort, par l'eau bouillante les tissus coupés en petits fragments, afin d'empêcher l'action des ferments solubles. Cette précaution n'est pas indispensable dans tous les cas, et si dans le foie du lapin le glycogène disparaît rapidement après la mort de l'animal, chez le chien, au contraire, on peut constater qu'au bout

d'un jour, la plus grande partie de cet hydrate de carbone n'a pas été modifiée.

Quoi qu'il en soit, il est préférable dans tous les cas de tuer les Champignons quelques heures au plus tard après leur récolte. Pour cela, il suffit de les couper en tranches pas trop minces et de les projeter dans de l'eau maintenue à l'ébullition. Il est très avantageux d'opérer de cette manière, car en même temps qu'on détruit les diastases, on débarrasse les Champignons de leurs substances solubles, et lorsqu'ils sont très riches en mucilages, comme le Bolet, par exemple, une grande partie de ces corps passe dans le liquide. On jette ensuite ce liquide que l'on remplace par de l'eau chaude, jusqu'à ce que celle-ci ne se colore plus sensiblement ou n'ait plus d'apparence gélatineuse.

Ce mode opératoire n'altère en rien le glycogène. Nous savons, en effet, par les travaux de R. Külz [1], que l'ébullition, même avec 2 °/₀ de potasse caustique, ne modifie pas ce corps; et comme, d'autre part, le glycogène est un colloïde, il ne peut diffuser au travers des membranes du Champignon, membranes qui résistent à tous les réactifs dissolvant la cellulose ordinaire, et que de Bary [2] a nettement distinguées des autres membranes végétales.

On pourrait critiquer le fait de découper en tranches le Champignon et de le traiter ensuite par une grande quantité d'eau bouillante. En effet, toutes les cellules qui ont été lésées par le couteau abandonnent leur glycogène au liquide, et l'on perd ainsi une certaine quantité de produits (que l'on pourrait, au besoin, extraire de ce liquide); mais cette perte est peu considérable, par suite de la petitesse de la plupart des éléments des Champignons. Si l'on examine au microscope des coupes de matériaux soumis à ce traitement préalable, on constate, par la réaction de l'iode, que le glycogène n'a disparu que sur une épaisseur excessivement faible, tandis que toutes les cellules qui n'ont pas été entamées ont conservé la totalité de leur hydrate de carbone de réserve.

---

[1] R. Külz, *Zeitschr. f. Biolog.*, Bd XXII, S. 161.
[2] de Bary, *Morphol. und Physiol. der Pilze*, S. 14.

L'extraction de celui-ci sera considérablement facilitée par cet enlèvement des substances solubles et d'une grande partie des mucilages.

Dans l'extraction du glycogène animal, pour obtenir en solution tout cet hydrate de carbone, il suffit de couper en fragments les organes qui le renferment et de les chauffer avec une solution de potasse caustique à 1 ou 2 °/₀ qui détruit les cellules animales.

Mais lorsqu'il s'agit des tissus végétaux, et surtout de ceux des Champignons, ce traitement est tout à fait inefficace. Leurs cellules résistent pendant un temps très long à la potasse, même concentrée. Jusqu'à présent, on se contentait de broyer au mortier les tissus frais. Par ce procédé, on arrive bien à désagréger les tissus, mais en examinant au microscope la pulpe ainsi obtenue, on constate que la plupart des cellules ont été séparées, mais non brisées par le pilon. Presque toutes sont restées intactes, et le broyage peut être prolongé très longtemps sans produire de meilleur résultat, ce qui est dû à la couche mucilagineuse qui revêt les membranes cellulaires. Grâce à ce mucilage, les cellules glissent sous le pilon sans se laisser écraser. Comme le glycogène ne peut diffuser, la pulpe traitée par l'eau ne lui abandonne que des quantités très faibles de ce corps.

Le broyage avec du sable, ou d'autres substances insolubles, donne des résultats qui ne sont guère plus satisfaisants.

Le seul moyen d'arriver à briser la presque totalité des cellules et à extraire ainsi la plus grande quantité de glycogène consiste à dessécher préalablement les tissus et à les porphyriser ensuite. Sèches, les cellules se brisent assez facilement sous le pilon.

Les matériaux traités par l'eau bouillante comme il a été dit plus haut seront donc mis à égoutter et placés ensuite à l'étuve sèche entre 60° et 80°, jusqu'à dessiccation. Celle-ci obtenue, on élève la température vers 100° pendant une heure ou deux, de façon à rendre les tissus plus secs et plus cassants. On les soumet alors à la pulvérisation dans un mortier en fer, et l'on passe au tamis de soie le plus fin possible. La poudre ainsi obtenue est soumise aux traitements que nous allons indiquer.

Méthode d'extraction. — Le procédé le plus généralement employé pour extraire le glycogène est celui qui a été préconisé par Brücke [1], et qui consiste à séparer les matières albuminoïdes au moyen de l'iodure double de mercure et de potassium en présence d'acide chlorhydrique, et à précipiter ensuite le glycogène par deux volumes d'alcool absolu. Avec les tissus animaux, ce procédé donne d'excellents résultats. A plusieurs reprises, on a proposé certaines modifications à cette méthode, mais aucune ne présente un réel avantage. Landwehr [2] conseille de précipiter les corps albuminoïdes par l'acétate de zinc et d'ajouter à la liqueur filtrée une solution concentrée de perchlorure de fer. Il précipite ensuite le fer, au bain-marie, par une solution de carbonate de soude, sous forme d'hydrate ferrique, qui entraîne tout le glycogène. Ce procédé ne permet pas de séparer les gommes animales. On verra toutefois qu'il nous a partiellement servi.

Siegmund Fränkel [3] opère à froid et extrait le glycogène par l'acide trichloracétique dans lequel celui-ci se dissout. Les albuminoïdes restent insolubles. Il semble résulter du travail de l'auteur que sa méthode n'offre pas d'avantages sérieux.

Toutes ces modifications sont peu recommandables, et la méthode de Brücke reste encore actuellement le meilleur procédé d'extraction du glycogène chez les animaux. Les recherches de R. Külz [4] ont d'ailleurs démontré l'exactitude des résultats qu'elle fournit.

Nous avons, au début de nos recherches sur le Bolet, essayé d'employer le procédé de Brücke pour extraire le glycogène des Champignons. Mais les résultats que nous en avons obtenus ont été défectueux. Dans l'extraction avec les tissus animaux, le grand inconvénient provient de la proportion considérable de matières albuminoïdes que le liquide renferme, et que l'iodure double de

---

[1] Brücke, *Sitzungsber. d. Wiener Akad.*, 3. Febr. 1871, Bd LIII, II.

[2] Landwehr, *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, Bd VIII, SS. 165-174.

[3] S. Fränkel, *Studien über Glykogen* (Pflüger's Archiv, 1892, Bd LII, S. 125).

[4] R. Külz, *Zeitschr. f. Biologie*, Bd XXII, S. 161.

mercure et de potassium parvient à éliminer presque sans perte de glycogène. Dans les liquides provenant du traitement des Champignons, les substances protéiques sont peu abondantes, mais, d'un autre côté, la solution est souvent très riche en composés hydrocarbonés autres que le glycogène. Ces corps se rapprochent des gommes, des mucilages, des dextrines, et leur étude reste encore presque complètement à faire. Vis-à-vis de beaucoup de réactifs, ces corps se comportent d'une manière assez analogue au glycogène, qu'ils entraînent avec la plus grande facilité dans leurs précipitations. De très nombreuses recherches nous ont été nécessaires avant de parvenir à séparer, d'une manière satisfaisante, le glycogène de tous les autres hydrates de carbone des Champignons.

Chez le Bolet, qui était le seul matériel à notre disposition au début de ces recherches, cette difficulté s'est présentée au plus haut degré. Nous sommes arrivé à la vaincre de la façon suivante :

La poudre de Bolet (bien sèche, comme il a été dit) est épuisée par l'eau chaude rendue légèrement alcaline au moyen de potasse ou de soude caustiques. 100 grammes de poudre sèche nécessitent environ 2 à 3 litres d'eau. On porte lentement à l'ébullition en agitant et on maintient quelque temps le liquide vers 100°. On le laisse ensuite se refroidir lentement et déposer. On décante le liquide clair. Le résidu est repris par l'eau alcalinisée, chauffé jusqu'à l'ébullition et laissé quelque temps en repos. On décante comme précédemment le liquide, et le résidu est repris de la même manière par l'eau, aussi longtemps que celle-ci dissout du glycogène en quantité suffisante pour obtenir, par quelques gouttes d'une solution d'iode dans l'iodure de potassium, une teinte jaune-brun, pâlissant nettement à chaud et reparaissant par le refroidissement.

Malgré le traitement préalable, le liquide est encore très mucilagineux. C'est pourquoi il est préférable de laisser se déposer la poudre et de décanter sans filtrer.

Tous les liquides provenant des décantations successives sont réunis et neutralisés par l'acide chlorhydrique dilué. Leur volume total, par 100 grammes de poudre sèche de Bolet, est généra-

lement de 4 à 5 litres. Sans se préoccuper de l'aspect trouble dû à des particules en suspension, on y produit un précipité de phosphate de calcium. A cet effet, le liquide est additionné de phosphate de sodium cristallisé dans la proportion de 1 à 1.5 °/₀. Lorsque le sel est dissous, on verse lentement et en agitant sans cesse une solution de chlorure de calcium (à 5 °/₀ environ) renfermant une quantité de ce sel égale à la moitié du poids du phosphate de sodium employé. Il se forme un volumineux précipité de phosphate de calcium qui se dépose assez rapidement en grumeaux et entraîne avec lui toutes les matières insolubles en suspension.

Le liquide, laissé en repos quelque temps, est alors filtré à travers une toile. Sa réaction est devenue franchement acide. On y ajoute de l'ammoniaque jusqu'à faible réaction alcaline. L'addition d'ammoniaque produit un trouble plus ou moins considérable, qui ne se résout que lentement en un véritable précipité. On porte progressivement la température du liquide jusqu'à 80°, et l'on cesse alors tout de suite l'action de la chaleur. Sous l'influence de l'élévation de température, un nouveau précipité de phosphate de calcium apparaît, d'un aspect différent du premier et qui, au lieu de gagner le fond du récipient, vient former à la surface du liquide une couche compacte, d'aspect mucilagineux. En même temps, le liquide est devenu très clair et présente l'opalescence des solutions de glycogène. Après le refroidissement, ce précipité se sépare avec la plus grande facilité, et le liquide est soumis de nouveau au même traitement, une ou plusieurs fois, suivant son aspect plus ou moins mucilagineux. On peut également s'assurer si le précipité de phosphate de chaux continue à entraîner des mucilages [1], en en dissolvant une partie dans de l'acide chlorhydrique dilué, étendant d'un peu d'eau et ajoutant deux volumes d'alcool : les mucilages se précipitent avec leur aspect filamenteux caractéristique.

[1] Nous employons ici le pluriel, en parlant du mucilage des Bolets, parce que divers essais nous portent à admettre qu'il existerait plusieurs mucilages chez ce Champignon.

Le rôle du précipité de phosphate de calcium ne consiste pas uniquement à éclaircir le liquide par l'entraînement mécanique des particules solides qui le rendaient plus ou moins trouble. Son emploi a un but plus important. C'est grâce à lui que nous sommes parvenu à nous débarrasser de la plus grande partie des mucilages, sans entraîner en même temps le glycogène. Le phosphate de chaux se comporte ici d'une manière assez analogue au blanc d'œuf que l'on emploie dans certains procédés de clarification. L'albumine, en se coagulant, enlève au liquide non seulement les corps en suspension, mais elle les prive, de plus, d'une quantité de matières salines et de substances organiques qui y étaient dissoutes. Cette analogie d'action entre la précipitation de l'albumine par la chaleur et celle du phosphate de chaux à froid ou par une élévation de température a été bien mise en évidence par les intéressants travaux de Duclaux [1] sur la coagulation.

Cette propriété du phosphate de chaux d'entraîner certains corps en se précipitant a été mise à profit depuis longtemps en chimie, notamment dans la préparation de la diastase [2]. Les mucilages des Champignons sont également entraînés par lui, tandis que le glycogène, s'il n'est pas en solution trop concentrée, reste dissous dans le liquide. Il est prudent, pour produire le précipité, de s'en tenir toujours à la proportion de 10 grammes environ de phosphate de sodium par litre de liquide employé, soit 1 °/₀. Lorsque ce sel se trouve dans la proportion de 5 à 10 °/₀, sa précipitation brusque et complète par le chlorure de calcium occasionne une perte très notable de glycogène.

Nous nous sommes assuré qu'une solution de glycogène hépa-

---

[1] Voir à ce sujet la série des articles et des revues critiques publiés par E. Duclaux dans les ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR : *Sur la différenciation des matières albuminoïdes*, t. VI, p. 369; *Sur la coagulation du sulfate de quinine*, id., p. 657; *Sur la coagulation*, id., p. 584; *Sur les actions coagulantes*, id., p. 854; *Sur le mécanisme de la coagulation*, t. VII, p. 57; *Sur la coagulation de l'albumine*, id., p. 642.

[2] AD. WURTZ, *Dictionnaire de Chimie*, t. I, 2e partie, p. 1148, à l'article *Diastase*.

tique à 1 °/₀, additionnée de 1 °/₀ de mucilages extraits du Bolet, donne, par l'addition de deux volumes d'alcool absolu, un précipité blanc, en longs filaments gélatineux, brunissant fortement par l'iodure de potassium iodé, qui se réunissent à la surface du liquide. Les mucilages et le glycogène ont donc été précipités simultanément. Mais si, avant de précipiter par l'alcool, on soumet la solution au traitement par le phosphate de soude et le chlorure de calcium indiqué plus haut, le liquide, après filtration, donne, par l'addition de deux volumes d'alcool absolu, un précipité blanc, grumeleux, ayant l'aspect et les caractères du précipité de glycogène typique, et dont le poids est très peu inférieur à celui de la substance contenue primitivement dans le liquide.

Beaucoup de corps précipitent les mucilages : l'alcool, l'acide acétique, les oxydes alcalino-terreux, les solutions basiques ou neutres de beaucoup de sels métalliques, etc. Nous avons essayé l'action de tous ces corps, en variant la concentration ou en fractionnant la précipitation. Mais chaque fois que les mucilages se précipitaient, ils entraînaient le glycogène avec eux, sans que jamais il ait été possible de redissoudre uniquement l'un des deux corps. Le procédé au phosphate de calcium est le seul qui nous ait réussi.

La méthode des précipitations fractionnées par l'alcool a été également employée par nous, sans grand succès. On arrive par ce moyen à une séparation relative du glycogène, mais jamais complète. Il y a une grande perte de produit, et le résultat final est peu satisfaisant.

Revenons au traitement du liquide après la précipitation, plusieurs fois répétée, de phosphate de chaux. Son volume est très considérable, et une grande partie des mucilages ayant été enlevée, ce qui reste n'est plus entraîné, à cause de la trop grande dilution. Il est donc nécessaire maintenant de concentrer la solution. Précipiter le glycogène impur par deux volumes d'alcool demanderait une trop grande quantité de ce dernier produit. On pourrait employer l'évaporation, mais la quantité d'eau à chasser nécessiterait une ébullition prolongée, à laquelle il est préférable de ne pas recourir, afin d'empêcher une modification possible

du glycogène. Le procédé de Landwehr nous permet de tourner la difficulté. On ajoute au liquide une solution concentrée de perchlorure de fer (10 à 15 centimètres cubes par litre) et l'on y verse de l'ammoniaque en excès. Il se produit un précipité volumineux d'hydrate ferrique qui entraîne le glycogène et les mucilages. On le recueille, on le lave à l'eau et on le redissout ensuite dans l'acide chlorhydrique dilué. On étend la solution d'eau jusqu'à ce qu'elle ne soit plus trop visqueuse, et l'on ajoute deux volumes d'alcool ordinaire. On précipite ainsi en même temps le glycogène et les mucilages. Le précipité, lavé à l'alcool à 60° pour enlever le sel de fer, est redissous dans une quantité d'eau égale environ au quart du liquide primitif. Dans cette solution, on produit à nouveau le précipité de phosphate de chaux, une ou deux fois. Le glycogène (non encore complètement pur) est de nouveau séparé par le perchlorure de fer et l'ammoniaque, puis par l'alcool fort. L'aspect du glycogène précipité par l'alcool permet de s'assurer de sa pureté relative. S'il est encore très mucilagineux, en filaments, on le purifiera de nouveau par le phosphate de chaux, avant de le soumettre au traitement suivant.

Le glycogène, ainsi privé de la plupart de ses impuretés, est dissous dans dix à vingt fois son poids d'eau distillée. A cette solution, on ajoute du chlorure de sodium à saturation. Dans ce liquide saturé, on fait dissoudre jusqu'à refus, à la température ordinaire, du sulfate d'ammonium. Le liquide est ensuite placé dans un endroit frais pendant quelques jours, pour laisser se déposer le précipité mucilagineux qui se forme sous l'influence des sels dissous. Si l'on essaie de filtrer immédiatement le liquide, le précipité se colle au filtre, obstrue tous les pores et empêche la filtration. C'est pourquoi il est préférable de décanter au bout d'un certain temps le liquide clair et de filtrer le reste, qui passe alors plus facilement, parce que le précipité s'est réuni en une masse compacte.

Ce traitement met à profit la propriété de certains sels de précipiter, en solution concentrée, les hydrates de carbone, étudiée

Tome I, 1895.

par Pohl [1]. Les mucilages sont en général plus facilement précipitables par les sels que le glycogène. Les mucilages de Bolet, en particulier, sont déjà partiellement séparés par le chlorure de sodium à saturation, et complètement par le sulfate de magnésium à saturation, ou le sulfate d'ammonium non saturé. Le glycogène, lui, est insoluble dans le sulfate de magnésium ou dans le sulfate d'ammonium saturés. La précipitation n'est pas indépendante de la teneur du liquide en hydrate de carbone, et elle est d'autant plus rapide que la solution est plus concentrée.

Après un grand nombre d'essais, nous nous sommes donc arrêté au mode opératoire qui vient d'être décrit et qui nous avait donné les meilleurs résultats, en opérant sur des mélanges de glycogène du foie et de mucilages de Bolet. Le sulfate d'ammonium précipite les mucilages plus rapidement que le glycogène, pour la précipitation duquel il doit être presque à saturation. Si sa concentration est moyenne, il ne sépare qu'une partie des mucilages, et à mesure que la teneur en sel augmente, les mucilages deviennent insolubles en plus grande quantité, mais entraînent du glycogène, qui commence à se précipiter. Par contre, le glycogène reste dissous, si à sa solution préalablement saturée de chlorure de sodium, on ajoute du sulfate d'ammoniaque, même en excès. La raison de ce fait est que, dans la solution saturée de chlorure de sodium, le sulfate ammonique ne peut plus se dissoudre en aussi grande quantité; son pouvoir de dissolution est diminué environ de moitié. Le liquide renferme donc trop peu du sel d'ammonium pour rendre insoluble le glycogène, mais assez pour précipiter les mucilages, et ceux-ci, probablement à cause du chlorure de sodium, sont séparés plus complètement.

Pour retirer le glycogène de cette solution saline, on ne peut employer l'alcool, qui précipiterait en même temps les sels. A la rigueur, il suffirait de diluer le liquide et de séparer le glycogène par l'hydrate ferrique.

---

[1] Jul. Pohl, *Ueber die Fällbarkeit colloider Kohlenhydrate durch Salze* (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd XIV, S. 151).

Mais il est préférable d'avoir recours à un moyen qui permet une purification plus complète. On sait, en effet, que le glycogène forme avec l'iode un composé appelé généralement « iodure de glycogène », analogue à celui que l'amidon forme avec le même métalloïde. Ce composé, soluble dans l'eau comme l'iodure d'amidon, possède, ainsi que lui, la faculté d'être précipité par l'addition de sels. Cette propriété nous a servi pour séparer le glycogène de la solution saline saturée.

Préalablement, nous nous sommes assuré des caractères de cette précipitation. Nous avons pu constater que, mélangé aux mucilages de Bolet, le glycogène en solution saline était précipité seul par l'iode. Les mucilages restaient en solution dans le liquide.

On ajoute donc à la liqueur saline saturée le dixième environ de son volume d'eau et l'on y verse ensuite une solution d'iode assez concentrée (iode, 5; iodure de potassium, 10; eau, 100), saturée de chlorure de sodium au moment de l'emploi. Il faut verser rapidement la solution d'iode et en excès, de façon que le liquide, après la précipitation, soit fortement coloré en brun. S'il n'y a pas un grand excès d'iode, le glycogène ne se sépare que très incomplètement, et une grande partie de l'iode se dépose en cristaux, à cause de la concentration de la solution saline. C'est afin de rendre plus complète la précipitation du glycogène que le liquide iodé doit être additionné de chlorure de sodium.

En opérant avec soin, tout l'iodure de glycogène se précipite. On décante au bout d'une heure environ, on recueille le précipité sur un filtre et on le lave avec une solution d'iode de 1 °/₀ saturée de sel de cuisine. On le dissout ensuite dans l'eau distillée, et après décoloration au moyen d'acide sulfureux ou d'un sulfite, on filtre, puis on ajoute deux volumes d'alcool absolu au liquide filtré. Le glycogène se dépose. Mais, comme il renferme généralement une proportion assez forte de sels et qu'il est parfois légèrement coloré, il est nécessaire de le reprécipiter par l'alcool absolu à plusieurs reprises.

Il peut arriver que le glycogène reste néanmoins faiblement coloré. Dans ce cas, on obtiendra un produit très blanc en le redissolvant dans l'eau et produisant, une ou deux fois, dans cette

solution, un précipité de phosphate de calcium, en prenant soin de ne pas dépasser la dose de $^1/_2$ % de phosphate de sodium. On filtre et l'on traite, par deux volumes d'alcool absolu, plusieurs fois. Le précipité de glycogène est enfin lavé à l'alcool à 60°, puis à l'alcool absolu et séché dans le vide à la température ordinaire.

Brücke recommande de laver à l'éther le glycogène précipité par l'alcool. Pour le produit végétal, ce lavage est inutile, et il est préférable de le supprimer. L'éther du commerce est rarement anhydre et renferme généralement des traces d'acide provenant de sa fabrication, qui se fixent sur le glycogène, nécessitant ensuite de nombreux lavages à l'alcool absolu.

On remarquera que nous n'avons pas fait usage, dans l'extraction, de l'iodure double de mercure et de potassium. Il n'était d'aucune utilité ici. Les albuminoïdes sont en faible quantité dans les liquides d'extraction, et déjà après le premier traitement par le phosphate de soude et le chlorure de calcium, le sel de mercure ne donne plus aucun précipité.

Notre procédé d'extraction est très compliqué; mais ce n'est qu'en multipliant les manipulations comme nous l'avons fait, en mettant à profit tous les moyens qui permettaient une séparation plus ou moins entière des mucilages, que nous sommes arrivé à extraire du Bolet un produit présentant une similitude complète avec le glycogène typique.

Lorsque l'on opère sur d'autres Champignons, ces manipulations peuvent être parfois considérablement simplifiées, surtout si l'espèce est peu mucilagineuse. Dans l'extraction du glycogène de l'*Amanita muscaria*, les quantités de liquide à employer doivent être beaucoup moins considérables, et quelques précipitations par le phosphate de sodium et le chlorure de calcium suffisent généralement. 100 grammes de poudre sèche du Champignon sont épuisés par 2 litres d'eau, en moyenne, à l'ébullition, ce qui donne un liquide renfermant un peu plus de 1 % de glycogène et dans lequel le précipité de phosphate de calcium n'entraînera qu'une faible proportion de ce corps. A deux reprises, on provoque la formation du sel de chaux insoluble, en opérant comme il a été dit plus haut au sujet du Bolet. Après filtration, on sépare le

glycogène au moyen de l'hydrate ferrique. Par l'alcool, on le débarrasse ensuite du fer, et après redissolution dans l'eau distillée, on le sature de chlorure de sodium et de sulfate d'ammonium. Si les sels ne produisent pas de trouble notable, on précipite immédiatement le glycogène par l'iode. Si, au contraire, les sels rendent la solution plus ou moins opaque, on laisse reposer quelques jours, on filtre et l'on emploie l'iode comme précédemment.

Le glycogène, après sa séparation par l'alcool, reste en général quelque peu coloré chez l'*Amanita*. Cette coloration est due sans doute aux produits bruns ou noirs, très peu connus, qui se forment chez beaucoup de Champignons au contact de l'air et qui se fixent sur le glycogène. Les précipitations répétées par l'alcool absolu ne parviennent pas à enlever ces corps, et il faut de toute nécessité avoir de nouveau recours au précipité de phosphate de calcium, grâce auquel le glycogène est privé de ces impuretés. Le glycogène d'*Amanita* a une tendance à se précipiter moins vite par l'alcool absolu que celui du Bolet, et le précipité forme une masse plus compacte au fond du récipient.

L'extraction du glycogène du *Phallus impudicus*, soigneusement privé de ses couches mucilagineuses, ne présente aucune difficulté particulière, et elle est plus aisée que celle de l'*Amanita*. Le procédé à suivre est le même, et le produit obtenu présente, dans sa précipitation par l'alcool absolu, les mêmes caractères que chez le Bolet.

Quelques rares Champignons sont pour ainsi dire privés de mucilage, comme par exemple le *Peziza vesiculosa*, qui a servi aux premières extractions de glycogène faites par Errera. Dans ce cas, le procédé opératoire peut être considérablement simplifié, et déjà la méthode de Brücke seule peut donner de bons résultats.

Pour plus de clarté, résumons succinctement le mode opératoire que nous avons suivi avec tous les Champignons mucilagineux. Les matériaux bien séchés sont pulvérisés le plus finement possible, et la poudre obtenue est épuisée à l'eau bouillante légèrement alcaline. Dans ce liquide, préalablement neutralisé, on produit, à plusieurs reprises, un précipité pas trop abondant de phosphate

de calcium, qui enlève peu à peu la plus grande partie des mucilages. Après filtration, on sépare le glycogène au moyen du précipité d'hydrate ferrique et on le redissout dans une quantité d'eau pas trop grande. Cette solution glycogénique assez concentrée est alors saturée de chlorure de sodium, puis de sulfate d'ammonium et laissée en repos quelques jours, afin de permettre le dépôt des matières mucilagineuses insolubles dans cette solution saline. On filtre, et dans la liqueur filtrée, on sépare le glycogène au moyen d'une solution assez concentrée d'iode dans l'iodure de potassium, sous forme d' « iodure de glycogène » insoluble dans les solutions salines concentrées. Les matières mucilagineuses et gommeuses que les deux traitements précédents n'avaient pas éliminées, restent cette fois en solution. L' « iodure de glycogène » est dissous dans l'eau distillée, décoloré par l'acide sulfureux, et le glycogène est précipité par l'alcool. On le purifie ensuite par des précipitations répétées à l'alcool absolu.

Dans nos essais préliminaires, de même que dans les recherches comparatives dont nous parlerons plus loin, nous avions besoin d'une certaine quantité de glycogène animal. Nous avons préparé celui-ci en partant du foie de lapin et des moules. L'extraction a été faite par la méthode de Brücke, qui donne les meilleurs résultats avec les tissus animaux. Notre procédé, en effet, ne s'applique pas à ceux-ci, qui sont toujours très peu riches en matières hydrocarbonées autres que le glycogène.

III

EXTRACTION CHEZ LES LEVURES.

Nous venons de voir, à propos des Champignons proprement dits, les nombreuses difficultés qui se présentent chez certains d'entre eux dans l'extraction de leur glycogène. Suivant les espèces, le procédé que nous avons indiqué doit être suivi plus ou moins complètement, et si chez le Bolet il demande à être

appliqué dans toute sa rigueur, chez le *Peziza,* au contraire, il peut être presque négligé, et la méthode si simple de Brücke permet déjà d'obtenir un produit pur.

Il en est souvent ainsi, d'ailleurs, dans les recherches de chimie physiologique où une même méthode d'extraction ne peut s'appliquer indistinctement à tous les organismes, et où chaque cas spécial exige un traitement approprié.

Les Levures, dont les propriétés et le mode de végétation diffèrent à tant d'égards de ceux des autres Champignons, présentent toutefois comme eux de grandes difficultés au point de vue de l'extraction de leur glycogène. Leurs cellules sont de dimensions très restreintes, à parois très résistantes, et le glycogène n'y est pas également abondant à tous les stades de végétation. En outre, à côté de cet hydrate de carbone, elles en renferment d'autres, également solubles dans l'eau, et que l'alcool précipite.

Il en résulte que tout procédé d'extraction doit satisfaire essentiellement aux trois conditions suivantes : matériaux riches en glycogène, nécessité absolue de briser les cellules, séparation indispensable des gommes et des mucilages.

Ces divers points n'ont pas toujours été observés avec la rigueur désirable ; aussi n'est-il pas étonnant de constater que maintes fois le produit extrait consistait en glycogène très impur. Ce n'est que dernièrement qu'un glycogène qui semble pur a été extrait par Cremer [1]. Dans sa note préliminaire, cet auteur n'entre dans aucun détail sur les précautions qu'il a prises. Il dit uniquement qu'il s'est servi de la méthode de Brücke, complétée par des précipitations fractionées par l'alcool. Les caractères du produit qu'il a isolé concordent avec ceux du glycogène typique, et les résultats de ses recherches confirment en tous points les conclusions d'Errera.

Il y a peu de temps a paru un travail de A. Koch et Hosaeus [2]

---

[1] M. Cremer. *Demonstration des Hefeglykogens in den Zellen und als Präparat* (Münchener medicin. Wochenschrift, 1894, Nr 26).

[2] Alf. Koch und Hans Hosaeus, *Das Verhalten der Hefen gegen Glykogen* (Centralbl. f. Bakt. und Parasit., Bd XVI, Nrn 4-5, S. 153).

dans lequel ces auteurs mentionnent une extraction de glycogène des Levures. Ils ne semblent pas s'être préoccupés d'obtenir un produit très pur. Cependant, ils ont tenté de nourrir fortement leurs Levures, mais le procédé qu'ils ont employé ne pouvait leur donner que de mauvais résultats, et effectivement, ainsi qu'ils le reconnaissent, les cellules ne donnaient qu'une faible réaction par l'iode. Néanmoins, ce sont ces matériaux, très pauvres en glycogène, qui leur ont servi à l'extraction de ce corps. Ils n'ont pas cherché à broyer les cellules et les ont soumises uniquement à la méthode de Brücke, considérant comme vrai glycogène le produit obtenu finalement par l'addition de deux volumes d'alcool à 93°. Ils ne se sont pas inquiétés de la présence probable de la « gomme de Levure », dont l'existence, déjà mise en évidence par les travaux de Béchamp, Loew et Naegeli, a été confirmée par les recherches de Hessenland [1] et de Salkowski [2]. Les corps isolés par ces deux derniers auteurs semblent être identiques, malgré quelques très légères divergences dans les caractères chimiques, et surtout dans la composition centésimale admise par chacun d'eux. Quoi qu'il en soit, cette gomme de Levure est une espèce chimique nettement distincte, par ses caractères, du glycogène typique.

Les conditions les plus favorables pour obtenir des Levures riches en glycogène ont été indiquées avec beaucoup de soin par Laurent [3]. En moût de bière, ou bien en liquide de touraillon, additionné de 12 °/o de saccharose et à la température de 28°, la Levure se développe avec vigueur et est gorgée de glycogène en très peu de temps. Si on laisse la croissance se continuer, le liquide nutritif s'épuise peu à peu, et la Levure, au bout de deux ou trois jours, finit par consommer ses propres réserves.

---

1 Fritz Hessenland, *Sur la composition de la gomme de Levure* (Zeitschr. des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des deutschen Reichs, 1892, S. 671).

2 E. Salkowski, *Ueber fermentative Processe in den Geweben* (Du Bois-Reymond's Archiv, 1890, S. 554). — *Ueber die Kohlenhydrate der Hefe* (Ber. d. d. chem. Ges., Bd XXVII, S. 497).

3 Em. Laurent, *Recherches physiologiques sur les Levures* (Ann. de la Soc. belge de microscopie, t. XIV; ou, ci-dessus, dans le présent volume).

A plusieurs reprises, nous avons répété avec succès, sur diverses Levures de boulangerie et de brasserie, le procédé indiqué par Laurent. Dans quelques cas cependant, nous avons observé que certaines Levures de boulangerie, trop âgées ou mal conservées, se développaient d'une façon peu active et n'accumulaient que de faibles quantités de glycogène.

Afin d'éviter cet inconvénient, nous avons jugé préférable de préparer nous-même la quantité de Levures nécessaire à nos expériences définitives. Cette précaution nous a paru d'autant plus indispensable que la Levure de boulangerie renferme généralement de l'amidon, et nous tenions à écarter le plus soigneusement possible la présence de toute trace de ce corps. Car, dans des extractions préliminaires, nous avions remarqué que le glycogène de Levure donnait avec l'iode une coloration plus violacée que le glycogène des animaux ou des Champignons. Cette teinte pouvait être attribuée à des traces d'amidon, et il était donc opportun d'opérer en l'absence absolue de ce corps.

Pour cultiver nos Levures, nous avons d'abord préparé une assez grande quantité de moût de malt, obtenu par la saccharification du malt moulu, dans cinq fois son poids d'eau et à la température de 65° à 70°. Lorsque tout l'amidon eut été transformé et que le liquide, passé à la toile, ne donnait plus qu'une teinte jaune par l'addition d'iode, le moût a été porté à l'ébullition, puis filtré.

A une petite quantité de ce moût, on ajoute un peu de Levure provenant d'une culture pure ou bien de Levure de brasserie de bonne qualité et non chargée d'amidon. On place à la chambre thermostatique à 30° pendant un jour. Au bout de ce temps, la Levure a poussé vigoureusement et s'est déposée. On décante le liquide surnageant que l'on remplace par du moût frais. Cette opération est renouvelée chaque jour en augmentant progressivement la proportion du liquide au fur et à mesure que le dépôt de Levure devient plus considérable. Lorsque l'on a ainsi obtenu une quantité de cellules de Levure suffisante pour les recherches que l'on désire entreprendre, il ne reste plus qu'à la faire se gorger de glycogène. A cet effet, on verse après décantation, sur le dépôt de Levures, du moût additionné cette fois de 12 °/₀ de saccharose, et en quantité

telle qu'il y ait toujours au moins 1 litre de liquide sucré par 50 centimètres cubes de Levure humide. On laisse à 30° comme précédemment. Une fermentation active ne tarde pas à se manifester, et au bout de quelques heures, toutes les cellules de Levure sont bourrées de glycogène. Le maximum est atteint en cinq heures environ et se maintient durant cinq à dix heures.

En opérant de la façon que nous venons d'indiquer, on peut être chaque fois assuré d'un rendement considérable en glycogène. Ce mode opératoire a surtout pour but d'habituer peu à peu les Levures au milieu nutritif employé, et d'exagérer, par ces cultures successives en liquide très nourricier et abondant, la tendance à former des réserves hydrocarbonées. La Levure s'adapte ainsi aux solutions dans lesquelles on la fait croître, et ce pouvoir d'accommodation rapide, sur lequel Laurent insiste [1], a été signalé et établi déjà, d'une manière positive, par Pasteur [2].

Aussitôt que les Levures se sont gorgées de glycogène dans le moût sucré à 30°, il importe d'empêcher la diminution progressive de ce corps, qui se produirait inévitablement si on laissait le Champignon continuer sa croissance. On peut avoir recours à la chaleur; on détruit ainsi en même temps les zymases que les cellules peuvent renfermer, et dont l'existence a été démontrée par Fernbach [3].

Si l'on désire éviter l'action de la chaleur, l'emploi du chloroforme permet également d'empêcher la disparition du glycogène. Quoique le chloroforme ne suspende pas l'action des ferments solubles [4], il est curieux de constater que les cellules de Levure anesthésiée conservent tout leur glycogène. Nous avons laissé à 30° pendant huit et quinze jours des Levures riches, en présence d'eau chloroformée, et au bout de ce temps, la coloration obtenue par l'iode dans les cellules n'avait guère changé. Cependant, le glyco-

---

1 E. LAURENT, *loc. cit.*, p. 78; ou, ci-dessus, chap. V, § III.

2 PASTEUR, *Comptes rendus*, 1874, t. LXXVIII, p. 217.

3 FERNBACH, *Sucrase de la Levure* (ANN. DE L'INST. PASTEUR, 1890, t. IV, p. 641).

4 E. SALKOWSKI, *Du Bois-Reymond's Archiv*, 1890, S. 554.

gène de Levure comme celui des Champignons n'est pas réfractaire à l'action des diastases, et Cremer [1] a signalé que, sous l'influence de la salive, des Levures riches perdent en quelques heures tout leur glycogène. Avec la diastase du malt, la disparition se produit également très vite.

Nous avons essayé l'extraction du glycogène chez des Levures tuées par la chaleur, et chez d'autres soumises à l'action du chloroforme. Le résultat a été le même dans les deux cas, et aucune différence n'a été constatée entre les deux produits obtenus. Par suite, nous pouvions choisir l'un ou l'autre moyen, et nous avons finalement adopté de préférence la chaleur, qui permettait de priver la Levure plus complètement des sels et des matières gommeuses.

Le moût sucré renfermant les Levures riches en glycogène est légèrement alcalinisé par la potasse caustique et porté rapidement à l'ébullition. On laisse refroidir. Après le dépôt des cellules, on décante et l'on remplace le liquide par une solution à 1 °/₀ environ de potasse caustique. On chauffe de nouveau, on décante après refroidissement, et le même traitement est répété aussi longtemps que le liquide se colore d'une manière sensible. De cette façon, nous enlevons une assez grande partie de la gomme de Levure, sans subir de perte sensible en glycogène, qui, par suite de la nature colloïdale, ne peut diffuser dans le liquide. Les levures sont ensuite lavées soigneusement à l'eau bouillante.

Maintenant se présente une des grandes difficultés de l'extraction : le broyage des cellules. A l'état humide, elles résistent énergiquement au pilon; elles glissent sans se laisser écraser. En présence de sable, même très fin, le résultat n'est guère plus favorable, car les cellules sont beaucoup plus petites que les grains de sable, et le pilon frotte sur le sable entre lequel s'insinue la Levure. Sur une lame de verre, à la molette, procédé dont s'est servi

---

[1] M. Cremer, *Demonstration des Hefeglykogens in den Zellen und als Präparat* (Münchener medicin. Wochenschrift, 1894, Nr 26). Nous avons répété cette expérience avec plein succès. En quelques heures, des cellules de Levure riches en glycogène placées dans de la salive à 30° ne donnaient plus de réaction brune par l'iode dans l'iodure de potassium.

Fernbach, le résultat est meilleur : beaucoup de cellules sont brisées, mais il faut un temps très long, et le rendement est trop peu considérable, surtout lorsqu'il s'agit d'une extraction de glycogène.

La pulvérisation de la Levure séchée n'est pas recommandable. La plupart des cellules restent intactes.

Après un grand nombre d'essais, nous avons finalement adopté le procédé suivant. Il consiste à former avec la Levure une masse sèche, compacte, assez dure, et à user lentement cette masse au moyen d'une meule.

Ce procédé nous a été inspiré par les travaux de Payen [1]. Dans ses recherches sur la composition des tissus végétaux, cet auteur, pour ouvrir les cellules d'Algues et éliminer entièrement leur contenu, les agglomérait humides par une pression graduée, desséchait ensuite la masse et la soumettait à l'action d'une lime. Nous avons essayé d'abord d'agglomérer les cellules de Levure en opérant suivant le procédé de Payen. Nous avons ainsi obtenu une masse très dure, d'aspect corné. Mais la lime n'entamait que peu de cellules, et la plupart étaient seulement séparées les unes des autres sans être ouvertes. En ajoutant de la gomme arabique, de la gélatine ou de la dextrine pour rendre plus forte l'adhérence des cellules les unes aux autres, le résultat restait sensiblement le même, et, de plus, l'addition de ces substances était à éviter, car il eût été nécessaire d'en débarrasser ultérieurement le liquide. Ce motif nous a fait tenter l'emploi du silicate de potasse, qui ne présentait pas cet inconvénient. Mais ce corps donnait une masse tellement dure, que la lime parvenait à peine à l'entamer et nécessitait un frottement considérable, occasionnant une forte élévation de température qu'il fallait éviter. Afin de diminuer la trop grande dureté de la masse produite par le silicate alcalin, nous avons essayé de mélanger les Levures à diverses matières minérales plus ou moins friables, des silicates et des phosphates insolubles, du

[1] Payen, *Composition du tissu des Cryptogames* (Ann. des sc. nat. : *Botanique*, 2e série, t. XIV, p. 88).

sable, de la magnésie calcinée, des carbonates alcalino-terreux, etc. La substance qui nous a donné les meilleurs résultats est la silice pulvérulente, obtenue par la précipitation d'un silicate soluble au moyen de l'acide chlorhydrique [1]. Le mélange de parties égales de cette silice précipitée et de carbonate de calcium précipité est tout aussi recommandable.

La Levure encore humide est additionnée d'un poids double du mélange qui vient d'être indiqué, et triturée très intimement. La poudre ainsi obtenue est fortement malaxée au mortier, en ajoutant de la solution de silicate de potasse du commerce en quantité suffisante pour obtenir une masse homogène, de la consistance du mastic des vitriers, à laquelle on donne la forme de parallélipipèdes ayant en moyenne 8 à 10 millimètres d'épaisseur. On laisse sécher à l'air libre très lentement, en humectant au besoin, avec du silicate de potasse très dilué, lorsque la dessiccation se produit trop vite et que les masses ont une tendance à se fendiller. Au bout de cinq à huit jours, la masse est devenue dure, et l'on peut alors achever la dessiccation dans l'air sec vers 30° à 40°.

Le limage à la main de cette sorte de « pierre de Levure », comme on pourrait l'appeler, aurait exigé un temps trop long, et nous avons jugé préférable en tous points de le remplacer par l'action d'une petite meule en grès, mise en mouvement par un moteur à eau dont on pouvait régler la vitesse de rotation. Les « pierres de Levure », auxquelles nous avions donné la forme de petites briques, longues d'environ 10 centimètres, sur 4 centimètres de largeur et 8 millimètres d'épaisseur, étaient pressées contre la meule au moyen d'un contre-poids que l'on pouvait graduer à volonté, de manière à obtenir une pression constante. Dans cette

[1] Pour préparer cette silice pulvérulente, on chauffe dans une capsule de porcelaine la solution de silicate de soude du commerce diluée de quatre à cinq fois son volume d'eau, et l'on ajoute un excès d'acide chlorhydrique. On évapore à siccité et l'on continue à chauffer quelques moments la poudre sèche. On la délaie ensuite dans de l'eau et on la lave à l'eau froide jusqu'à ce que celle-ci ne précipite plus le nitrate d'argent. La silice est alors définitivement séchée.

opération, il faut éviter le plus complètement possible toute élévation de température, afin d'empêcher une modification quelconque du glycogène. La brique doit s'user très lentement. En général, la vitesse de rotation et la pression étaient réglées, dans nos expériences, de façon à n'user la brique que de 1 à 2 centimètres au maximum par heure, sans produire d'échauffement sensible. Celui-ci se révèle immédiatement par l'odeur de la poudre obtenue. Plus l'opération aura été lente, plus la poudre obtenue renfermera de cellules de Levure brisées. Le frottement modéré de la meule use, pour ainsi dire, les cellules, tandis qu'une rotation rapide ne fait que les arracher, sans les ouvrir, et dans la poudre examinée au microscope, on aperçoit, dans le dernier cas, une grande quantité de cellules restées intactes.

Toute cette partie du traitement des Levures est très délicate et nécessite quelques tâtonnements, mais on arrive rapidement à obtenir une poudre riche en glycogène.

Celle-ci est alors mise à bouillir dans de l'eau en assez grande quantité (environ trois ou quatre fois son poids) pendant quelques instants. Le résidu est repris une ou deux fois par de l'eau bouillante et tous les liquides sont réunis. La réaction est ici nettement alcaline, à cause du silicate de potasse qui renferme toujours un excès de base. On neutralise ensuite au moyen d'acide chlorhydrique dilué, et le liquide est alors soumis à un traitement analogue à celui du Bolet. Sans s'inquiéter de son aspect très trouble, on y produit un précipité de phosphate de calcium, en ayant soin de ne jamais employer une quantité de phosphate de sodium cristallisé supérieure à 1 °/₀ du liquide en expérience. On répète plusieurs fois ce traitement en observant les précautions qui ont été indiquées antérieurement. En se précipitant, le phosphate de calcium entraîne les gommes ou mucilages de Levure. Mais, en même temps, ceux-ci se chargent d'une quantité de glycogène qui n'est pas négligeable; de sorte que la précipitation du sel de calcium, qui, chez le Bolet, n'occasionnait qu'une perte relativement faible, produit ici un déficit assez appréciable. Cet entraînement du glycogène de Levure par le phosphate de chaux n'est pas dû à ce qu'il pourrait être différent du glycogène typique, mais



bien à ce qu'il se trouve en présence de corps particuliers, les « gommes de Levure », qui, en se précipitant, l'enlèvent partiellement au liquide.

Lorsque le phosphate de chaux n'entraîne plus de gommes, sa précipitation se fait sans perte notable de glycogène.

Dans le liquide assez dilué et contenant le glycogène, on sépare celui-ci par l'alcool ou par le précipité d'hydrate ferrique. Le glycogène ainsi obtenu est redissous dans l'eau et précipité par l'iode, en présence des sels à saturation, comme chez le Bolet.

Le glycogène est alors précipité par l'alcool absolu à plusieurs reprises. S'il reste légèrement coloré, on pourra facilement l'obtenir très blanc, en produisant dans sa solution un faible précipité de phosphate de chaux. Après séparation du phosphate par filtration, on précipite par deux volumes d'alcool absolu une ou plusieurs fois. On lave enfin à l'alcool à 60°, puis à l'alcool absolu, et l'on fait sécher dans le vide à la température ordinaire.

Il est inutile de laver à l'éther le glycogène extrait par ce procédé.

L'emploi de l'iodure double de mercure et de potassium est complètement superflu. Après la première précipitation par le phosphate de soude et le chlorure de calcium, le sel double de mercure et de potassium ne produit plus le moindre trouble dans les liquides et est sans action sur les gommes de Levure.

IV

PROPRIÉTÉS DU GLYCOGÈNE.

§ 1. *Caractères généraux.* — Le glycogène séché dans le vide se présente sous forme d'une poudre blanche, amorphe, insipide, plus ou moins compacte. Il se dissout dans l'eau froide en donnant une liqueur opalescente qui s'éclaircit considérablement par l'addition de potasse caustique ou d'acide acétique. C'est un hydrate de carbone répondant à la formule $6\,(C^6H^{10}O^5) + H^2O$.

L'alcool ainsi qu'un certain nombre de sels et d'hydrates minéraux le précipitent de ses solutions.

Il ne réduit pas les solutions alcalines des sels de cuivre, de bismuth ou de mercure, mais il acquiert cette propriété après avoir été chauffé avec les acides minéraux. Sous l'influence des ferments diastasiques, il se transforme en un corps réduisant la liqueur de Fehling, qui est probablement de la maltose.

Le glycogène agit sur la lumière polarisée et la dévie fortement à droite. Errera [1] a confirmé cette propriété pour le glycogène des Champignons.

Un des caractères principaux de cet hydrate de carbone est la coloration brun-rouge ou brun-violet qu'il prend par l'addition d'iode en présence d'iodure de potassium. Cette coloration disparaît par la chaleur, pour reparaître par le refroidissement.

Il n'existe pas de différences marquées dans la composition et les propriétés du glycogène extrait des muscles, du foie ou des autres organes des animaux [2], mais on observe de légers écarts, comme nous allons le voir. Nous verrons également que les caractères du glycogène des Champignons ou des Levures sont semblables à ceux du glycogène animal, et nous examinerons dans ce chapitre les diverses propriétés des produits que nous avons isolés, en consacrant toutefois un chapitre spécial à l'étude très importante de l'action de l'iode.

La plupart des essais ont été faits à la fois sur nos divers glycogènes extraits de l'*Amanita*, du Bolet, du *Phallus*, des Levures, du foie de lapin et des moules.

§ 2. *Différences dans l'aspect du glycogène suivant l'origine et le mode opératoire.* — Si le glycogène doit toujours être amorphe et blanc, sans teinte plus ou moins jaunâtre, ce qui serait un indice de l'existence d'impuretés, son aspect présente parfois des variations assez considérables : tantôt c'est une poudre légère, neigeuse; tantôt c'est une poudre compacte, rappelant l'amidon sec.

---

[1] Errera, *L'épiplasme des Ascomycètes.*

[2] Hoppe-Seyler, *Handbuch der physiol. und pathol. chemischen Analyse*, 1893, 6 Auflage, S. 75.

En général, on obtient le glycogène sous forme d'une poudre légère, en précipitant sa solution, pas trop concentrée, par deux volumes d'alcool absolu qui le sépare en grumeaux légers, blancs, se déposant assez lentement. L'allure de la précipitation permet aussi de juger de la pureté du corps. Lorsque le glycogène est pur, les grumeaux ne s'accolent pas et n'adhèrent pas, ou en très petit nombre, aux parois du vase. Mais dès que des matières gommeuses ou mucilagineuses s'y trouvent mélangées, même en faible quantité, le précipité, au lieu d'être grumeleux et opaque, se présente en longs filaments mucilagineux, assez transparents, qui adhèrent très fréquemment au verre.

Suivant l'origine, de petites différences peuvent souvent être remarquées dans la manière d'être en présence de l'alcool. Le glycogène hépatique se précipite d'habitude plus facilement que celui des muscles; mais il n'en est pas toujours ainsi, et parfois il exige l'addition d'une grande quantité d'alcool ou mieux d'un mélange d'alcool et d'éther. Nous avons observé la même chose, quoique à un degré moindre, chez les Champignons. Suivant l'espèce, la précipitation se fait plus ou moins bien. Le glycogène de Bolet est complètement précipité par deux volumes d alcool, tandis que celui d'*Amanita* exige une quantité d'alcool plus considérable.

On peut à volonté faire varier l'aspect du glycogène précipité, en versant l'alcool lentement ou brusquement, en opérant sur des solutions plus ou moins diluées, et surtout en modifiant la température à laquelle se fait la précipitation. Le glycogène séparé à chaud est plus compact et se dépose parfois sous forme d'une masse d'apparence gommeuse qui adhère fortement au fond du récipient.

§ 3. *Nécessité des sels pour la précipitation.* — La précipitation du glycogène par l'alcool nécessite la présence dans le liquide d'une petite quantité de sel. Külz a signalé le premier cette particularité. Lorsque le glycogène est très pur et lorsqu'il a été à plusieurs reprises redissous et précipité, l'addition de deux volumes d'alcool absolu à sa solution la rend très laiteuse, mais sans amener la séparation du glycogène, même au bout de plusieurs jours. Dès

que l'on ajoute à ce liquide une faible quantité d'un sel, du chlorure de sodium par exemple, tout l'hydrate de carbone se dépose en très peu d'instants. Des échantillons de tous nos glycogènes ont présenté ce caractère, que l'on considère parfois comme un indice de grande pureté du glycogène; mais nous avons pu constater le même phénomène chez les mucilages du Bolet, et nous estimons que chez beaucoup de colloïdes la présence de sels est indispensable pour obtenir une précipitation par l'alcool.

Le glycogène précipité par deux volumes d'alcool absolu doit être soigneusement lavé à l'alcool anhydre, avant sa dessiccation, de façon à lui enlever autant que possible toute l'eau qu'il renferme. On le sèche ensuite dans le vide, à la température ordinaire, en présence d'acide sulfurique concentré. Lorsqu'il est humide, on ne peut le sécher à l'étuve, car, sous l'action de la chaleur, il se dissout dans l'eau qu'il renferme encore et prend l'aspect d'une masse dure, translucide, d'aspect gommeux, qui ne se redissout qu'avec lenteur dans l'eau.

§ 4. *Absence d'azote et de cendres.* — Le glycogène pur ne renferme pas d'azote, et l'on doit toujours faire la recherche minutieuse de ce dernier corps, dont la présence serait l'indice de l'existence de matières étrangères, surtout de nature protéique. Le glycogène animal, qui se trouve dans les tissus à côté de quantités considérables de substances albuminoïdes, peut, lorsque la méthode de Brücke n'a pas été rigoureusement suivie, être mélangé d'une partie de ces substances. Chez les végétaux, l'albumine étant moins abondante et la grande quantité d'autres matières hydrocarbonées exigeant de nombreuses purifications qui séparent en même temps les matières protéiques, le glycogène obtenu est rarement mélangé de produits azotés.

Nous avons recherché l'azote, dans nos divers glycogènes, au moyen du potassium métallique et d'un mélange d'un sel ferreux et d'un sel ferrique en présence d'acide chlorhydrique dilué. Tous nos essais ont été négatifs.

Normalement, le glycogène devrait être exempt de cendres, mais, en réalité, il ne l'est jamais, et l'impossibilité d'obtenir un

produit qui ne laisse aucun résidu à la calcination, est en corrélation avec la nécessité de la présence d'une faible quantité de sels pour obtenir la précipitation par l'alcool.

La quantité de cendres que peut laisser le glycogène à la calcination est des plus variables; pour la réduire au minimum, il faut multiplier les précipitations par l'alcool. A la suite de cinq ou six précipitations successives, le glycogène animal ne laisse qu'un résidu insignifiant à la calcination : environ $^1/_2$ °/₀₀. Un tel glycogène en solution aqueuse n'est plus précipité par l'alcool, et sa séparation exige l'addition d'une faible quantité de chlorure de sodium. Le glycogène de lapin que nous avons préparé avait cette faible teneur en sels, de même que celui de Bolet. Mais pour obtenir ce résultat avec le glycogène végétal, le nombre des précipitations par l'alcool doit être beaucoup plus considérable, parce que dans l'extraction il est fait usage d'une grande quantité de divers sels, dont on débarrasse difficilement l'hydrate de carbone. Ce sont surtout des sels de calcium, et particulièrement le sulfate, qui accompagnent ici le glycogène. Ces sels se redissolvent dans l'eau avec lui, et comme lui l'alcool les précipite.

Le glycogène d'*Amanita* renfermait 0.315 °/₀ de cendres. Celui de Levure, que nous avons extrait à deux reprises, en contenait, dans la première extraction, environ 1 °/₀, et dans la seconde, 3.15 °/₀.

§ 5. *Nature de la solution : pseudo-solution. Opalescence.* — La solubilité du glycogène dans l'eau n'est qu'apparente; et si, au cours de l'exposé de ces recherches, à défaut d'une expression plus convenable, nous avons constamment employé le terme de « solution de glycogène », celui-ci ne doit cependant pas être pris au sens exact du mot. En réalité, il s'agit ici d'une solution apparente, de ce qu'on peut appeler une « pseudo-solution ». Les molécules de glycogène ne sont pas dissoutes dans l'eau : elles y sont plutôt comme gonflées ou distendues et y forment une sorte d'émulsion, dont les éléments en suspension se trouvent dans un état de division extrême. A cet état, ils sont invisibles, même aux plus forts grossissements, peuvent traverser facilement les filtres les plus serrés, mais les membranes perméables les retiennent.

Errera[1] a insisté sur ce fait, qui présente une très grande importance au point de vue physiologique et chimique. Il rappelle les démonstrations faites par Brücke, puis par Boehm et Hoffmann, de cette fausse solubilité du glycogène. « Brücke, dit-il, l'a » prouvée en montrant que la prétendue solution diffuse la lumière » et que cette lumière est polarisée, absolument comme lorsque de » petites particules solides, réfléchissantes, sont suspendues dans » l'eau. Boehm et Hoffmann en ont aussi donné une élégante » démonstration, fondée sur ce que les solutions de glycogène » enlèvent aux globules sanguins leur matière colorante comme le » fait l'eau pure, tandis que les solutions salines ou sucrées laissent » les globules colorés. »

Les pseudo-solutions de glycogène sont opalescentes, et ce phénomène s'observe déjà très nettement avec des solutions à 1 °/₀₀. Faut-il considérer cette opalescence comme une propriété propre à toutes les sortes de glycogènes? Nous ne le pensons pas; et quoique ce caractère soit des plus fréquents, nous admettons cependant qu'il puisse faire défaut dans certains cas. Si l'existence de l'achrooglycogène de Boehm et Hoffmann a été mise en doute, il ne doit pas en résulter qu'un corps privé d'opalescence en solution aqueuse ne puisse être toutefois considéré comme un glycogène.

Les solutions de nos glycogènes des Champignons étaient toutes très opalescentes, et à égale concentration il n'était pas possible de les distinguer des solutions de glycogènes animaux. Mais en ce qui concerne le glycogène de Levure, nous avons constaté une différence très sensible. Sa solution est d'une opalescence très faible, que l'on peut évaluer à environ le quart de celle des autres solutions. A deux reprises, nous avons extrait le glycogène des Levures, et les deux fois, le produit obtenu montrait la même opalescence très faible. Celle-ci ne peut pas être attribuée à des impuretés : elle pourrait avoir pour cause une légère modification du

[1] L. Errera, *L'épiplasme des Ascomycètes*, etc., pp. 70 et suiv., ou, ci-dessus, pp. 62 et suiv.

produit au cours de l'extraction; mais il est à remarquer que le procédé d'extraction a été le même que pour les autres glycogènes. En outre, les essais que nous avons tentés dans le but d'extraire de ce glycogène un produit plus opalescent ne nous ont donné aucun résultat, et nous sommes donc porté à admettre que le glycogène des Levures est beaucoup moins opalescent que les autres.

Cette opalescence peut d'ailleurs disparaître chez certains glycogènes. En ce qui concerne la Levure, au bout de quelques jours la solution a perdu toute opalescence, les autres caractères n'ayant pas changé. Cette disparition se fait en l'absence de tout organisme vivant. Les solutions des autres glycogènes conservent leur opalescence un temps plus ou moins long. Au bout de plusieurs mois, elle commence à faiblir chez l'*Amanita*, tandis que le Bolet ou le lapin restent très longtemps sans changement. Mais cette disparition de l'opalescence peut aussi se produire avec le glycogène conservé à l'état sec, et nous avons nous même observé ce fait sur du glycogène de lapin qui était resté en flacon pendant plus d'un an et demi. Ce glycogène était très faiblement acide et sa solution ne présentait plus la moindre opalescence, alors qu'au début ce phénomène se manifestait de la manière la plus nette. A part cela, tous les autres caractères étaient restés les mêmes, et il n'y a aucune raison, nous semble-t-il, pour ne plus considérer ce corps comme du glycogène.

On sait que l'addition de potasse caustique ou d'acide acétique fait disparaître l'opalescence des solutions de glycogène. Mais cette disparition n'est pas complète; en outre, elle n'est pas définitive, car si l'on neutralise ensuite la solution, celle-ci reprend son opalescence première.

§ 6. *Action de diverses substances sur les solutions de glycogène.* — Certains réactifs qui précipitent beaucoup de matières gommeuses ou mucilagineuses sont sans action sur les solutions de glycogène. On peut citer comme exemple la liqueur de Fehling (qui précipite la « gomme de Levure » et un mucilage du Bolet) ainsi que toutes les solutions alcalines d'oxyde de cuivre. Il en est de même des solutions alcalines d'oxyde de bismuth ou de mercure, de l'acé-

tate neutre de plomb et en général de tous les sels minéraux neutres ou acides.

Par contre, un assez grand nombre de corps permettent de séparer le glycogène, et cette séparation peut s'effectuer de différentes manières. Parfois, elle est due à l'insolubilité de l'hydrate de carbone dans le liquide résultant du mélange de l'eau et de la substance ajoutée. Dans d'autres cas, elle peut avoir pour cause un simple entraînement mécanique par un précipité qui prend naissance dans le liquide, ou bien enfin elle provient de la formation d'une sorte de combinaison insoluble du glycogène avec le réactif employé.

Le premier de ces cas s'observe avec l'alcool ordinaire qui précipite le glycogène comme tel, sans qu'il soit uni d'une façon quelconque au corps précipitant. D'autres alcools ont la même propriété, ainsi que l'acide acétique et quelques autres acides gras. A ces substances, on peut encore adjoindre certains sels qui, ajoutés en quantités suffisantes, séparent aussi le glycogène. Ce sont surtout le sulfate d'ammonium et le sulfate de magnésium.

Le cas typique de l'entraînement mécanique du glycogène est sa séparation par l'hydrate ferrique naissant, mise à profit par Landwehr dans l'extraction de ce corps. L'hydrate ferrique produit par double décomposition au sein d'un liquide glycogénique entraîne en se précipitant tout l'hydrate de carbone. Cette propriété est partagée par un certain nombre de précipités, surtout de nature colloïdale.

Enfin, quelques précipitations du glycogène peuvent être assimilées à la formation d'un composé insoluble. Ainsi, par exemple, le précipité au moyen des solutions d'hydrate de baryum ou au moyen des solutions basiques et ammoniacales de plomb. Dans ce dernier cas, le glycogène fixe une certaine quantité de la base, et le précipité est formé de glycogène combiné avec celle-ci, ce qui n'avait pas lieu dans les cas précédents. Nous ne faisons que citer en passant ces combinaisons, sur lesquelles nous reviendrons plus loin.

Pour le moment, nous insistons essentiellement sur ce que toutes nos solutions de glycogène ont présenté une similitude

d'action absolue vis-à-vis des diverses substances dont nous venons de parler.

§ 7. *Composition chimique du glycogène.* — De nombreuses analyses élémentaires du glycogène animal ont été publiées, et il n'est pas sans intérêt de rappeler les divers chiffres qui ont été trouvés.

La première analyse a été faite par Pelouze, en 1857, qui admet la formule $C^6H^{12}O^6$. L'analyse lui avait donné comme résultat :

C. 39,8
H. 6,1.

Un an plus tard, Kekulé a indiqué les chiffres suivants :

C. 44,49
H. 6,49,

correspondant à la formule $C^6H^{10}O^5$.

La même année, Lochner trouve :

C. 36,21
H. 7.37.

Formule : $C^6H^{12}O^6 + H^2O$.

Klincksieck, en 1861, obtient dans ses analyses des valeurs très semblables à celles de Kekulé, et Bizio, quelques années plus tard, admet également la formule $C^6H^{10}O^5$.

Chittenden, en 1875, a analysé divers échantillons de glycogène, les uns séchés à 100°, les autres entre 110°-120°, et il a indiqué les résultats suivants :

	Séchés à 100°.		Séchés à 110°-120°.	
	I.	II.	I.	II.
C.	43,93	43,91	43,56	43,63
H	6,45	6,40.	6,71	6,71.

Il est assez curieux de voir ici que le glycogène séché à 100° est plus riche en carbone que quand il a été soumis à l'action d'une température de 110°-120°.

Les chiffres trouvés par von Vintschgau et Dietl sont :

C.	43,04	à	43,90
H.	6,30	à	7,10.

Boehm et Hoffmann, qui se sont beaucoup occupés de glycogène animal, renseignent les chiffres suivants :

C.	43,95	à	44,14
H.	6,29	à	6,04.

Ils admettent la formule 11 ($C^6H^{10}O^5$) + H^2O.

Quelques années plus tard, E. Külz et Bornträger [1] ont analysé divers glycogènes préparés d'après la méthode de Brücke et soigneusement purifiés. Les produits étaient séchés à l'étuve entre 110°-115° jusqu'à poids constant. Ces auteurs ont obtenu les valeurs suivantes :

C.	43,64	43,47	43,58	43,55	43,77
H.	6,35	6,32	6,48	6,78	6,31.

D'après ces résultats, ils admettent pour formule du glycogène, 6 ($C^6H^{10}O^5$) + H^2O.

A partir de ce travail de Külz et Bornträger, les valeurs trouvées à l'analyse et la formule admise n'ont plus guère changé. Fränkel et d'autres adoptent la formule proposée par Külz.

De notre côté, nous avons également fait un certain nombre de combustions organiques afin de déterminer la composition centésimale de nos divers glycogènes.

Les échantillons étaient séchés à l'étuve à 105°-110° jusqu'à poids constant, puis brûlés dans le tube à combustion en présence d'oxyde de cuivre dans un courant d'oxygène sec et privé d'anhydride carbonique.

Dans le tableau suivant, nous groupons tous les résultats que

[1] E. KÜLZ et BORNTRÄGER, *Ueber die elementare Zusammensetzung des Glykogens* (PFLÜGER'S ARCHIV, 1881, Bd XXIV). C'est à ce travail de Külz que sont empruntés les chiffres des diverses analyses citées plus haut.

nous avons obtenus dans nos diverses analyses, en indiquant les quantités de matières employées et tenant compte des proportions d'eau et de cendres. Nous donnons en même temps les poids de CO^2 et de H^2O recueillis dans chaque analyse. Les trois dernières colonnes renseignent les quantités pour cent de carbone, hydrogène et oxygène (calculé par différence) auxquelles se rapportent les chiffres fournis par l'analyse.

ORIGINE DU GLYCOGÈNE.	QUANTITÉS employées.	CO^2.	H^2O.	COMPOSITION CENTÉSIMALE.		
				Carbone.	Hydrogène.	Oxygène.
1. Lapin	0,2037	0,3331	0,1166	44,10	6,36	49,54
2. Lapin	0,2622	0,4231	0,1490	44,00	6,31	49,69
3. Lapin	0,2361	0,3782	0,1367	43,68	6,43	49,89
4. Lapin	0,2577	0,4138	0,1468	43,74	6,32	49,94
5. Bolet	0,2210	0,3508	0,1311	43,28	6,61	50,11
6. Bolet	0,2635	0,4208	0,1519	43,54	6,32	50,14
7. Bolet	0,2572	0,4107	0,1505	43,54	6,50	49,96
8. Amanita	0,2587	0,4145	0,1501	43,69	6,44	49,87
9. Amanita	0,2705	0,4309	0,1606	43,44	6,59	49,97
10. Amanita.	0,2257	0,3641	0,1259	44,03	6,19	49,78
11. Levure	0,2654	0,4235	0,1514	43,51	6,33	50,16
12. Levure	0,2636	0,4206	0,1473	43,51	6,20	50,29

Un coup d'œil jeté sur les résultats de ces analyses fait voir immédiatement l'identité de composition de tous ces glycogènes, qu'ils proviennent des Levures, des Champignons ou des animaux.

On remarquera que quelques analyses donnent des quantités de carbone un peu trop fortes.

Au début de nos combustions, nous obtenions, avec notre glycogène de lapin, des valeurs, pour le carbone, encore plus élevées et voisines, en général, de 44,40, qui correspond à la for-

mule $C^6H^{10}O^5$, et que nous supposions, par suite, devoir être la formule du glycogène. Par contre, dans les analyses du glycogène végétal, les quantités de carbone étaient plus faibles. Convaincu de l'identité de nos divers produits, nous avons supposé que cette différence dans la teneur en carbone, suivant l'origine, devait être attribuée à une cause d'erreur, et nous avons pu nous assurer qu'elle provenait uniquement de la présence de traces d'acides dans le glycogène animal. Ces traces étaient dues à l'éther qui avait servi au lavage, suivant le procédé de Brücke. Sous l'influence de la chaleur, dans la dessiccation à l'étuve, cet acide agissait sur le glycogène et le modifiait plus ou moins complètement. En effet, après l'action de la chaleur, ce corps dissous dans l'eau réduisait abondamment la liqueur de Fehling, tandis qu'avant d'avoir été chauffé, il était sans action sur ce réactif.

Pour débarrasser ce glycogène de l'acide, nous l'avons dissous dans l'eau et précipité par l'alcool, puis lavé par une grande quantité d'alcool absolu. Après ce traitement, il ne donnait plus qu'une réaction excessivement faible au papier de tournesol très sensible.

Les analyses 1, 2, 3 et 4 ont été effectuées avec ce glycogène, ainsi débarrassé de son acide. Les deux premières analyses montrent qu'il n'était pas encore absolument exempt d'acide, car elles donnent une quantité pour cent de carbone un peu trop forte. La preuve que cet acide est la cause de ce résultat anormal est fournie par les analyses 3 et 4, dont les chiffres sont plus concordants avec ceux des autres glycogènes. Dans ces analyses 3 et 4, nous avons eu soin de neutraliser le plus complètement possible toute trace d'acide, en placant, pendant cinq à dix minutes, le glycogène destiné à l'analyse sous une cloche dont l'atmosphère était saturée de vapeurs d'ammoniaque. L'hydrate de carbone était ensuite porté à l'étuve à 105°-110° jusqu'à poids constant. Sous l'influence de la chaleur, l'ammoniaque absorbée par le glycogène se dégageait, et il ne restait que la très minime quantité qui s'était combinée à l'acide, mais qui était trop faible pour pouvoir être déterminée, et, par suite, nous n'en avons pas tenu compte dans nos calculs.

Une des analyses de l'*Amanita*, n° 10, nous a également donné

des chiffres pour le carbone sensiblement plus élevés. Ici ce fait est dû à ce que l'échantillon destiné à cette analyse a été chauffé à une température plus élevée, par suite d'un mauvais fonctionnement de l'étuve. Ce glycogène, pendant près de deux jours, a été chauffé à plus de 120°, et il est très admissible que cette chaleur élevée et persistante ait pu produire une déshydratation plus profonde du glycogène.

Nous avons à dessein insisté sur cette action modificatrice de la chaleur et de traces d'acides, car c'est à cette action qu'il faut très probablement attribuer les résultats erronés obtenus par divers auteurs avant la publication des analyses de Külz.

Les résultats que nous avons obtenus dans les combustions des glycogènes de *lapin*, de *Bolet*, d'*Amanita* et de *Levure*, en tenant compte des réserves que nous venons de faire, montrent une concordance parfaite dans la composition centésimale de ces corps. La quantité de carbone calculée, en prenant la moyenne des neuf analyses non entachées d'erreur, est de 43,54, tandis que la quantité moyenne d'hydrogène est de 6,41. Ces chiffres correspondent d'une manière très satisfaisante à la formule $6(C^6H^{10}O^5) + H^2O$. En effet :

	Calculé pour $6(C^6H^{10}O^5) + H^2O$.	Moyenne des analyses.
	—	—
C.	43,63	43,54
H.	6,26	6,41
O.	50,11	50,05
	100,00	100,00

§ 8. *Action sur la lumière polarisée.* — Les solutions de glycogène agissent sur la lumière polarisée et la font dévier fortement à droite. Cette déviation considérable que produit ce corps a toujours été indiquée comme l'une des propriétés essentielles du glycogène, et Külz [1] met à profit ce caractère dans un procédé de

[1] E. KÜLZ, *Pflüger's Archiv*, 1881, Bd XXIV, S. 90.

dosage polarimétrique. Il détermine, pour ce dosage, la déviation produite par la solution glycogénique avant et après inversion, et il calcule, d'après les valeurs obtenues, la quantité de l'hydrate de carbone qui se trouvait dans la solution.

Ce procédé, très simple comme méthode et rapide comme exécution, ne nous semble pas devoir être adopté. Il se base sur le principe que le pouvoir rotatoire du glycogène est exactement connu. Or la rotation de beaucoup de corps, et surtout des hydrates de carbone, est d'une détermination très délicate et se trouve sous la dépendance de nombreuses causes modificatrices.

Ce fait, sur lequel on n'insiste pas suffisamment, apparaît clairement avec les solutions glycogéniques, dont de nombreuses déterminations polarimétriques ont été publiées. En effet, comme il n'existe pas de caractère absolument propre au glycogène, on attache en général une très grande importance à son pouvoir rotatoire très élevé, mais qui toutefois ne diffère pas beaucoup de celui des dextrines, amylodextrines, etc.

Comme preuve de ce qui vient d'être dit, il est intéressant de rappeler brièvement les valeurs qui ont été successivement adoptées pour le pouvoir rotatoire du glycogène, et dont la plupart sont empruntées au travail de E. Külz [1].

Une détermination faite par Meding, en 1860, donne au glycogène une rotation de 200°.

Hoppe-Seyler n'indique pas de valeur exacte. Il admet que l'action sur la lumière polarisée est environ trois fois plus forte que celle de la dextrose, et Hoffmann est du même avis.

Luchsinger obtient les valeurs 127°, 130°, 140° pour le glycogène du foie, et 140° pour celui des muscles.

Finn conclut de ses recherches à une déviation de 173°, 168°, 160°, 163°, tandis que Boehm et Hoffmann admettent des chiffres beaucoup plus élevés, variant de 213° à 235°; moyenne : 226°,7.

E. Külz s'est également occupé de cette question. Il a examiné

[1] E. Külz, *Ueber das Drehungsvermögen des Glykogens* (Pflüger's Archiv, Bd XXIV).

un assez grand nombre d'échantillons préparés par la méthode de Brücke et séchés à l'étuve jusqu'à poids constant. Il s'est assuré que cette dessiccation n'altérait en rien le pouvoir rotatoire du glycogène. Il a opéré sur des solutions de concentration de 0.5 °/₀ environ, examinées en tubes de 10 centimètres de longueur. Ses nombreuses déterminations lui ont donné des chiffres qui oscillent entre 203° et 233°, mais la moyenne de toutes ses observations est 211°, et il admet cette valeur pour le pouvoir rotatoire α du glycogène, quelle que soit la concentration de la solution.

Fränkel, dans son travail déjà cité, indique la valeur + 197°, tandis que Landwehr [1] trouve 213°,3 et Cremer [2] 200°,2.

Tous ces chiffres ont été trouvés avec le glycogène animal, et l'on remarquera que, suivant les auteurs, ils varient de 127° à 235°.

Cremer [3] a déterminé le pouvoir rotatoire de son glycogène de Levure et l'a trouvé égal à 198°,9.

Nous avons également déterminé le pouvoir rotatoire de nos différents glycogènes, et nous nous sommes servi dans ces recherches du polarimètre Laurent, à lumière jaune sodique, à pénombres.

Les glycogènes destinés à ces recherches étaient simplement séchés dans le vide en présence d'acide sulfurique concentré. Nous avons préféré les examiner sans les faire passer à l'étuve, malgré l'avis de E. Külz, qui admet que la chaleur n'exerce aucune modification sur le pouvoir rotatoire. Aux divers échantillons séchés à froid dans le vide, nous prélevions une certaine quantité exactement pesée qui était dissoute dans l'eau distillée à 15° et examinée à l'appareil de polarisation. Une autre partie du même échantillon était également pesée, séchée à l'étuve jusqu'à poids constant, puis incinérée dans une capsule en platine, de façon à déterminer la quantité d'eau et de cendres contenues dans les divers échantillons.

---

[1] *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, Bd VIII, S. 170.
[2] *Zeitschr. f. Biologie*, Bd XXIV, S. 100.
[3] *Loc. cit.*

Le tableau ci-dessous indique les quantités de matière (calculées dépourvues d'eau et de cendres) qui se trouvent dans 100 centimètres cubes des solutions. Celles-ci ont été toutes examinées en tubes de 20 centimètres de longueur. Dans chaque expérience, l'exactitude du zéro de l'appareil était vérifiée, puis nous déterminions, en faisant un assez grand nombre de lectures (six à dix au moins), la déviation produite par cette couche de 20 centimètres de solution. Cette déviation est indiquée dans la troisième colonne.

Dans certaines expériences, nous avons examiné la déviation à des moments différents et qui variaient, pour une même solution, depuis une heure jusqu'à deux jours, après le moment de la dissolution, afin de constater si le pouvoir rotatoire se modifiait au bout d'un certain temps, comme cela arrive pour quelques sucres. Nous n'avons remarqué aucun changement.

La quatrième colonne du tableau indique le pouvoir rotatoire de chaque glycogène calculé d'après la formule $(\alpha)_D = \frac{\alpha\, 100}{cl}$, dans laquelle α représente la déviation observée, c la concentration °/₀ de la solution et l la longueur en centimètres du tube employé.

ORIGINE DU GLYCOGÈNE.	Concentration °/₀ de la solution.	Déviation observée en tubes de 20 centimètres.	Rotation $(\alpha)_D$.
1. Lapin	0,3801	1°28′	192°55′
2. Lapin	0,7779	2°58′	190°41′
3. Moule	0,4878	1°50′	187°55′
4. Bolet.	0,7053	2°38′	186°33′
5. Bolet.	0,5819	2°12′	189° 1′
6. Amanita	0,6021	2°22′	196°23′
7. Phallus.	0,4481	1°40′	185°59′
8. Levure.	0,5930	1°59′	184°48′

La moyenne de ces différentes rotations est de + 189° 18′. Cette valeur est plus faible que celle obtenue par Külz, Boehm et Hoff-

mann, etc.; mais, quoi qu'il en soit, les résultats de nos déterminations permettent de constater l'identité d'action de nos glycogènes, quelle que soit leur provenance, sur la lumière polarisée.

§ 9. *Action des diastases.* — Les diastases dissolvent le glycogène et le transforment rapidement en un corps réduisant la liqueur de Fehling et qui est sans action sur le réactif de Barfoed (acétate de cuivre dans de l'acide acétique très dilué).

Nos glycogènes ont tous présenté ce caractère. Nous avons employé dans ces recherches de la salive recueillie assez longtemps après le repas, que nous avons additionnée de son volume d'eau et filtrée. Cette solution ne contenait aucun corps réduisant la liqueur de Fehling. A des solutions opalescentes de nos glycogènes à 0,2 %, nous avons ajouté des volumes égaux de salive diluée. Dès que les deux liquides étaient mélangés, l'opalescence commençait à faiblir, et au bout de deux minutes elle n'était plus appréciable. En essayant par l'iode le mélange à divers moments, on constatait de même une diminution excessivement rapide de la coloration. Au bout de trois minutes, l'iode ne donnait plus qu'une teinte très légère, et au bout de cinq minutes, toute trace de coloration par l'iode avait disparu du liquide.

Celui-ci, chauffé alors avec la liqueur de Fehling, donnait une abondante réduction du sel de cuivre, tandis que l'ébullition avec le réactif de Barfoed ne produisait aucun précipité.

Une solution de glycogène sur laquelle la salive avait agi pendant quinze minutes a été traitée à l'ébullition par la liqueur de Fehling ajoutée en quantité suffisante pour que le liquide reste légèrement bleu après que toute action réductrice a cessé. Le liquide filtré a été ensuite acidulé par de l'acide chlorhydrique dilué et maintenu au bain-marie à 100° pendant quelque temps. Après refroidissement, le liquide neutralisé par de la soude caustique et essayé de nouveau par le réactif de Fehling donnait un nouveau précipité d'oxydule de cuivre.

En laissant agir plus longtemps la salive, le résultat reste le même.

Une autre solution de glycogène, sur laquelle l'action de la salive

s'était continuée pendant plus longtemps, a été divisée en deux parties égales. Une des parties a été traitée immédiatement par la liqueur de Fehling, tandis que la seconde a été préalablement chauffée au bain-marie en présence d'acide chlorhydrique dilué pendant une heure et demie, et soumise ensuite à la liqueur de Fehling. La solution qui avait été soumise à l'action de l'acide a réduit une quantité d'oxydule de cuivre une fois et demie plus considérable que la partie qui n'avait pas subi le même traitement.

Ainsi donc, la salive transforme tous nos glycogènes en un corps soluble, ne se colorant plus par l'iode, réduisant la liqueur de Fehling et restant sans action sur le réactif de Barfoed. Ce sont là tous caractères généralement admis pour la maltose. Mais ne pouvant consacrer beaucoup de glycogène à toutes ces recherches, nous n'avons pas tenté la séparation de cette maltose pour la soumettre à l'action de la phénylhydrazine.

Nous avons également suivi au polarimètre la marche de l'action de la diastase. Une solution de glycogène de Levure d'environ 0,5 °/₀ de concentration et qui présentait une déviation de 1° 36′ a été additionnée du cinquième de son volume de solution de salive et examiné immédiatement au polarimètre. La déviation était alors de 1° 14′ [1], tandis qu'elle aurait dû être de 1° 17′ si l'addition de salive n'avait produit aucune action autre que la dilution même. A ce moment, toute opalescence a déjà disparu, et aussi toute trace de coloration par l'iode, ce que nous pouvions constater sur une partie du mélange, conservée dans ce but. Mais des transformations chimiques continuent néanmoins à se produire dans le liquide, car la déviation, qui n'était tombée que de 0° 3′ au moment où l'opalescence avait disparu, était devenue, au bout d'une heure et demie, 1° 8′, soit donc un abaissement de 0° 9′. Observée environ vingt heures après, la déviation a encore diminué et est devenue 1° 2′. Quelques heures plus tard, une nouvelle observation a donné la même valeur, ce qui fait donc une diminution totale de 0° 15′.

---

[1] La déviation due à la salive seule, dans cette expérience, peut être négligée. Elle était lévogyre et inférieure à 0°1′.

Par suite, nous pouvons approximativement calculer le pouvoir rotatoire du corps formé sous l'influence de la salive, en admettant, ce qui reste toutefois à établir, que le glycogène s'est transformé en un seul et même corps. Dans cette hypothèse, le pouvoir rotatoire de la solution glycogénique étant tombé de 1° 17′ ou 77′ à 1° 2′ ou 62′ et la rotation du glycogène de Levure étant approximativement 185°, la rotation du corps formé tombera dans le rapport de 77 à 62, et nous aurons la proportion :

$$77 : 185 = 62 : x$$
$$x = 149 \text{ environ.}$$

Mais ce chiffre est un peu fort, car, en se modifiant, le glycogène a fixé de l'eau; et s'il s'est transformé en maltose $C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O$, il a dû absorber cinq molécules d'eau. Si l'on tient compte de cette augmentation de poids, la valeur de x devient environ 138. Or celle-ci est très proche du pouvoir rotatoire de la maltose, qui est, d'après Beilstein (3e édition), = 140,375.

En rapprochant de ce résultat les caractères chimiques donnés plus haut, il semble bien que le glycogène est transformé en maltose par la salive, ainsi que l'admettent Musculus et von Mering.

Une transformation en isomaltose ou en dextrose aurait produit un abaissement beaucoup plus considérable du pouvoir rotatoire. En effet, la rotation de l'isomaltose = 68,036.

Avant de parler de l'action des acides sur le glycogène, nous désirons revenir brièvement sur la marche de l'action de la salive, observée au polarimètre. Il est intéressant de constater que lorsque toute opalescence a disparu et que le glycogène ne se colore plus par l'iode, il a conservé sensiblement le même pouvoir rotatoire. Celui-ci diminue lentement, et ce n'est qu'au bout d'un jour, à la température de 13°-15°, qu'il semble devenir permanent.

Ainsi donc, nous voyons qu'à la température ordinaire, l'opalescence et la coloration par l'iode du mélange de glycogène et de salive disparaissent en deux ou trois minutes, tandis que la transformation en un corps, que nous supposons être de la maltose, n'est complète qu'au bout de vingt-quatre heures environ. Cet

écart des temps des réactions démontre, nous semble-t-il, que plusieurs phénomènes se succèdent dans cette action des zymases.

La transformation en maltose se faisant insensiblement, il en résulte aussi que suivant le moment où l'on arrête l'action de la zymase, on obtiendra un liquide de composition différente et qui sera d'autant plus riche en maltose que la diastase aura agi plus longtemps, les conditions d'expérience restant les mêmes.

Par suite, ce serait commettre une grave erreur que de vouloir se rendre compte de la marche du dédoublement de l'hydrate de carbone par l'observation seule de la diminution de la teinte produite par l'iode.

§ 10. *Action des acides*. — Sous l'influence des acides minéraux, le glycogène est dédoublé et transformé probablement en dextrose, d'après les recherches de E. Külz et Borntraeger [1]. Cremer [2], en chauffant pendant vingt-cinq minutes à trois atmosphères une solution de glycogène en présence d'acide oxalique, a observé la formation d'isomaltose, dans la proportion de 10 °/₀ environ.

La saccharification du glycogène par les acides forts est fréquemment employée pour le dosage de ce corps. Maydl (cité par Külz) s'est servi de ce moyen pour s'assurer de l'identité de divers glycogènes. Il a constaté également qu'il ne se forme jamais autant de sucre réducteur qu'il y a de glycogène décomposé, et que par suite celui-ci devait être combiné à une certaine quantité d'eau.

Nos expériences ont eu pour but de déterminer si tous nos glycogènes donnaient sous l'influence des acides un corps semblable et réduisant des quantités égales d'oxyde de cuivre.

Pour opérer la saccharification, nous avons choisi le procédé de Sachsse (acide chlorhydrique dilué pendant trois heures au bain-marie), qui nous semblait préférable au procédé de Fresenius et Will (acide sulfurique dilué pendant trois à cinq heures au bain-

[1] *Pflüger's Archiv*, 1881, Bd XXIV, S. 28.

[2] Cremer. *Zur Kenntniss des Säureabbaues des Glycogens* (Zeitschr. f. Biol., Bd XXXI, Heft 2).



marie), et surtout au procédé de Pillitz (acide sulfurique très dilué à 140°).

20 centigrammes de glycogène de lapin, de Bolet, d'*Amanita* et de Levure ont été chauffés chacun au bain-marie pendant quatre heures avec 20 c. c. d'acide chlorhydrique dilué au dixième. Les solutions étaient placées dans de petits ballons surmontés d'un long tube de verre à parois minces servant de réfrigérant ascendant.

Après refroidissement, tous les liquides ont été neutralisés à la soude caustique et dilués exactement à 50 c. c.

Chacun des liquides a été examiné au polarimètre, puis essayé à la liqueur de Fehling.

Pour vérifier le titre de la liqueur cuivrique qui nous servait dans ces expériences, nous avons préparé une petite quantité de saccharose recristallisée en partant de sucre candi très blanc. Cette saccharose séchée dans le vide contenait 0,04 °/₀ d'eau et 0,06 °/₀ de cendres. Une quantité exactement pesée de cette saccharose a été chauffée au bain-marie en présence d'acide chlorhydrique pendant une demi-heure. Ce liquide, dont la teneur en sucre interverti était exactement connue, nous a servi à déterminer la quantité exacte de sucre interverti qui réduisait 10 c. c. de notre liquide de Fehling. Connaissant ainsi le titre de celui-ci, un simple calcul nous permettait de rapporter en sucre interverti la quantité d'oxyde de cuivre réduit par les diverses solutions de glycogène soumises à l'action de l'acide chlorhydrique.

Au polarimètre, les déviations observées étaient sensiblement les mêmes, ne variant que d'un écart de deux à quatre minutes.

Les résultats de la saccharification sont les suivants :

100	de glycogène	de lapin	correspondent à	104,25	de sucre interverti.
100	—	d'*Amanita*	—	103,25	—
100	—	de Bolet	—	104,25	—
100	—	de Levure	—	106	—

Il est inutile de nous étendre plus longuement sur ces résultats, qui montrent bien que les divers glycogènes se sont dédoublés en sucres réducteurs identiques quant à leur action sur la lumière polarisée et sur la liqueur de Fehling.

§ 11. *Combinaisons diverses du glycogène.* — Les combinaisons que peut former le glycogène avec divers corps sont assez nombreuses, mais nous ne ferons que signaler rapidement celles qui ont fait l'objet d'une étude quelque peu approfondie.

Les combinaisons avec les bases connues actuellement sont surtout celles de baryum et de plomb. Nasse admet l'existence de deux combinaisons barytiques. Les arguments qu'il donne en faveur de cette hypothèse sont insuffisants, et nous croyons pouvoir émettre des doutes quant à la formule véritable de ces composés. Leur préparation à l'état de pureté est pour ainsi dire impossible, car il ne faut pas perdre de vue que le glycogène est une substance colloïdale qui, dans sa précipitation, entraîne mécaniquement une quantité variable de base ou de glycogène non combiné, suivant que l'un ou l'autre se trouve en excès. La plupart de ces combinaisons obtenues par précipitation de colloïdes doivent être considérées comme des mélanges de parties combinées avec d'autres non combinées. En outre, ces molécules très complexes donnent habituellement un nombre assez considérable de combinaisons avec une même base, et, suivant les conditions d'expérience, le rapport entre les diverses combinaisons qui se précipitent simultanément sera variable. Il s'ensuit que l'analyse donnera des résultats erronés et permettra de trouver, chez ces composés du glycogène avec le baryum ou le plomb, des quantités très diverses de ces métaux, suivant le mode opératoire.

Schützenberger a su préparer un triacétate de glycogène qui, par saponification, donnerait de nouveau du glycogène, mais cette combinaison demanderait à être étudiée à nouveau, de même que les éthers nitreux de cet hydrate de carbone, parmi lesquels Lustgarten a distingué un nitroglycogène et un dinitroglycogène. Ces composés semblent plutôt être des dérivés de corps provenant de la décomposition de la molécule complexe de glycogène, et probablement voisins des dextrines.

Nous devons indiquer encore les éthers benzoïques du glycogène étudiés par Wedenski [1] et examinés ensuite par Ludwig

[1] Wedenski, *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, Bd XIII, S. 125.

Kueny [1], qui insiste sur l'existence de plusieurs de ces combinaisons, sur leur grande instabilité et sur leur facile saponification par les alcalis.

En résumé, la plupart de ces composés du glycogène sont des combinaisons multiples, très instables et facilement dissociables en leurs composants. Le glycogène peut en être retiré généralement sans qu'il ait subi une modification appréciable.

A cause de la contingence des caractères de ces diverses combinaisons, nous n'avons pas jugé nécessaire de les préparer, parce qu'elles ne pouvaient nous renseigner sur l'objet principal de ce travail et qu'elles exigeaient la mise en œuvre d'une quantité trop considérable de matériaux.

§ 12. *Poids moléculaire du glycogène.* — Avant de finir ce chapitre, nous désirons ajouter quelques mots sur l'impossibilité de faire actuellement la détermination, même approximative, du poids moléculaire du glycogène.

Celle-ci a cependant été tentée, et nous trouvons, dans la littérature, une recherche dans ce sens faite par Sabanejew [2]. Cet auteur a appliqué la méthode cryoscopique à divers colloïdes : les acides tungstique et molybdique colloïdaux, l'hydrate ferrique, l'acide silicique et le glycogène. Nous n'avons pu prendre connaissance du travail original et vérifier si l'auteur avait envisagé les diverses difficultés que présente la méthode de Raoult appliquée au glycogène. Sabanejew a trouvé un abaissement du point de congélation qui correspend en moyenne au poids moléculaire 1585, lequel, dit-il, est proche de dix fois la formule empirique $C^6H^{10}O^5$. Il ajoute que le glycogène séché à 115° possède un poids moléculaire plus faible.

Il y a plusieurs points à considérer dans l'application de la méthode de Raoult au glycogène. Tout d'abord, celle-ci se rap-

[1] Ludwig Kueny, *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, Bd XIV, S. 330.

[2] A. Sabanejew, *Bestimmung des Moleculargewichts von Colloiden nach der Raoult'schen Methode* (Journ. d. russ. phys. chem. Gesellschaft, 1879. Ref. in Ber. d. D. chem. Gesellschaft, Berlin, 1880, S. 87).

porte essentiellement aux corps en solution, et nous avons vu plus haut que la solubilité du glycogène n'était qu'apparente. Par suite, il semble *a priori* que le point de congélation de l'eau ne doit pas être modifié par la présence de l'hydrate de carbone, comme il devrait rester le même si l'on ajoutait à l'eau de la silice pure [1] ou des fragments de platine.

Ensuite, il y a à tenir compte des sels que renferme toujours le glycogène. Ceux-ci sont solubles et produisent, pour leur propre part, une diminution du point de congélation qu'il est important de ne pas négliger, d'autant plus que le poids moléculaire du glycogène doit être très considérable et que, par suite, il est indispensable d'employer des solutions concentrées pour obtenir un abaissement appréciable, en admettant que cet abaissement puisse se produire.

Sabanejew dit que le glycogène séché à 115° possède un poids moléculaire moindre. Ceci déjà est une preuve que son produit était impur et renfermait probablement des traces d'acide, qui auront amené une modification de ce corps et sa transformation plus ou moins complète en substances solubles.

La valeur 1585 indiquée par cet auteur ne peut être adoptée. Le glycogène doit avoir une molécule plus grosse : sa formule empirique, qui est 6 ($C^6H^{10}O^5$) + H^2O (et non $C^6H^{10}O^5$), correspond déjà au poids moléculaire 990, qu'il faut certainement multiplier par un facteur assez considérable.

Nous estimons que cette affirmation peut être avancée en nous basant sur les recherches du poids moléculaire des dextrines faites cryoscopiquement par Brown et Morris, qui ont trouvé une valeur moyenne de 6000, et sur les recherches de Lintner et Dull, qui indiquent 5800.

La molécule de glycogène ne peut être plus petite que celle de la dextrine, attendu que cette dernière prend naissance dans le dédoublement du glycogène sous l'influence des diastases. Si donc

[1] Sabanejew a observé que la silice ne produit qu'un abaissement excessivement faible, qui reste dans les limites d'erreur de la méthode cryoscopique.

il faut admettre, avec les auteurs, que toutes les dextrines ont un poids moléculaire voisin de 6000, il en résulte que celui du glycogène doit être supérieur à ce chiffre.

Toutefois, nous tenons à faire quelques réserves quant aux résultats obtenus par la cryoscopie sur les dextrines. Il est permis de mettre en doute la véritable solubilité de ces substances. Nous n'avons entrepris à ce sujet aucune recherche spéciale, mais nous devons signaler ici l'observation faite par Errera (*loc. cit.*, p. 71, ou, ci-dessus, p. 62), de la pseudo-solubilité de l'amylodextrine de Musculus, dont la solution diffuse la lumière; et celle-ci est polarisée, comme avec les pseudo-solutions de glycogène.

En résumé, le poids moléculaire du glycogène nous est encore complètement inconnu, mais il doit être très élevé, car nous voyons ce corps s'accumuler en quantité considérable dans certaines cellules, et cette accumulation reste compatible avec les limites normales de leur tension osmotique.

V

ACTION DE L'IODE SUR LE GLYCOGÈNE.

Considérations générales. — L'iode colore en brun-rouge intense la solution de glycogène ; sous l'influence de la chaleur, cette coloration disparaît, et le refroidissement la fait reparaître.

Cette action de l'iode présente beaucoup d'analogie avec celle que ce même corps exerce sur l'amidon. Le produit bleu, appelé généralement « iodure d'amidon », possède, en effet, un certain nombre de caractères, qui se retrouvent avec plus ou moins de netteté chez le produit brun parfois dénommé « iodure de glycogène ». Il faut bien se garder cependant, ainsi que pourrait le faire croire cette appellation, de considérer ces deux iodures comme des composés chimiques nettement définis.

De ces deux corps, un seul, l'iodure d'amidon, a fait l'objet d'un grand nombre de travaux. Découverte en 1814 par Colin et Gaultier de Claubry, la coloration bleue de l'amidon sous l'influence

de l'iode a été considérée par les divers chimistes qui s'en sont occupés, tantôt comme le résultat d'une véritable combinaison, tantôt comme l'effet d'une dissolution d'iode dans l'amidon. Duclaux [1] surtout insista sur l'absence de fixité de composition du produit, et ses recherches le portèrent à admettre que la coloration était due à une simple solution. Mais les travaux de Mylius [2], en Allemagne, et ceux de Rouvier [3], en France, vinrent, dans ces dernières années, donner de nouveau une grande faveur à l'hypothèse d'un composé défini, et Beilstein [4], qui dans la 2e édition de son *Traité de chimie* admettait la théorie de la solution, considère dans la 3e édition l' « iodure d'amidon » comme une combinaison chimique pour laquelle il adopte la formule de Mylius.

Tout récemment, un intéressant travail de Küster [5] a fait voir que ce corps n'a pas une composition chimique stable, et il semble bien résulter de ses recherches que la coloration est due à une solution de l'iode dans l'amidon.

En ce qui concerne l'action de l'iode sur le glycogène, les quelques recherches faites jusqu'à présent ont eu pour but d'appliquer la coloration obtenue par l'iode au dosage colorimétrique du glycogène. Ce dosage a été préconisé par Goldstein [6]. Mais Luchsinger [7] a montré qu'il n'était guère praticable. Il objecte que les divers glycogènes se comportent différemment vis-à-vis de l'iode, donnant des teintes variables et qui souvent ne sont pas identiques pour un même glycogène, suivant qu'il a été séché ou qu'il est essayé frais [8]. En outre, la présence de nombreux corps modifie la

---

[1] DUCLAUX, *Ann. de chim. et phys.*, 4e série, t. XXV, 1872.

[2] MYLIUS, *Zeitschr. f. phys. Chemie*, Bd XI, S. 306.

[3] ROUVIER, *Comptes rendus*, t. CXVIII, p. 744.

[4] BEILSTEIN, *Handbuch der organ. Chemie*, 3te Aufl., 1893, S. 1085.

[5] F.-W. KÜSTER, *Ueber die blaue Iodstärke und die moleculare Structur der « gelösten » Stärke* (LIEBIG'S ANNALEN DER CHEMIE, Bd CCLXXXIII, S. 360).

[6] GOLDSTEIN, *Verhandl. der physik. med. Gesellschaft in Würzburg. N. F.*, Bd VII.

[7] LUCHSINGER, *Dissertation*, Zurich, 1885, S. 10.

[8] Cf. BRÜCKE, *Vorlesungen über Physiologie*, Bd I, S. 313.

coloration; tels sont : l'albumine, des mucilages, l'alcool, le chlorure de sodium, l'iodure de potassium, le carbonate et le phosphate de sodium, etc. D'après l'auteur, pour obtenir une coloration exacte, il faut ajouter à la solution du glycogène un cristal d'iode lavé à l'eau, au lieu d'iodure de potassium iodé.

E. Külz[1], s'occupant du dosage du glycogène, déconseille le procédé colorimétrique pour les mêmes motifs. Nasse[2] a observé que les sels ont une influence sur la teinte de l'iodure de glycogène. Les sels de sodium et d'ammonium renforcent la coloration. L'acétate de sodium donne des tons bleu-violet avec les divers glycogènes. La température de décoloration est aussi influencée par les sels, et elle est plus élevée s'il y a plus de sels. Le même phénomène a été signalé pour l' « iodure d'amidon » par Payen et Persoz.

La teinte obtenue par l'action de l'iode sur les différents glycogènes des Champignons et des Levures n'est pas la même chez tous. Celui du Bolet et de l'*Amanita* présente des colorations identiques à celui du foie de lapin; celui du *Phallus*, en solution pas trop diluée, a une couleur un peu plus foncée, et celui de la Levure se colore en brun-violet nettement distinct du brun-rouge des autres glycogènes[3].

Nos expériences sur l'action de l'iode sur le glycogène avaient pour objet, au début, de vérifier si les glycogènes extraits des

---

[1] E. Külz, *Ueber eine neue Methode, das Glycogen quantitativ zu bestimmen* (Pflüger's Archiv, Bd XXIV, S. 90).

[2] Nasse, *Pflügers Archiv*, Bd XXXVII, S. 85.

[3] Cette teinte violacée de l' « iodure de glycogène » de Levures ne peut être attribuée à la présence de petites quantités d'amidon. On peut observer cette même teinte à l'intérieur des cellules de Levures riches en glycogène. A cet effet, il suffit de les traiter par des quantités excessivement faibles d'iode ou, mieux encore, d'exposer une goutte d'eau, contenant de ces cellules, à des vapeurs d'iode pendant un temps assez court, à froid. On voit alors, au microscope. dans toutes les cellules où l'iode n'a pas pénétré en trop grande quantité, une teinte nettement violacée, semblable à celle que donne le glycogène extrait. S'il y a beaucoup d'iode, la coloration devient d'un brun intense.

Champignons ou des Levures présentaient la même affinité pour l'iode que le glycogène animal. Cette affinité ne pouvait se déterminer par le dosage de la quantité d'iode qui s'était fixée sur l'hydrate de carbone. En effet, l' « iodure de glycogène » ne se sépare pas du liquide dans lequel il est dissous avec la même facilité que l' « iodure d'amidon ». Celui-ci est aisément précipité par les sels, les acides minéraux, etc., tandis que l' « iodure de glycogène » exige une concentration saline ou acide considérable, qui diminue la solubilité de l'iode et peut provoquer sa précipitation partielle, de sorte que le précipité d' « iodure de glycogène » pourrait être mélangé d'iode libre. En outre, cet « iodure de glycogène » étant très soluble dans l'eau, il est impossible de le laver convenablement, même avec des solutions du même sel en présence duquel la précipitation a été faite, car ces solutions peuvent déjà le décomposer partiellement.

Emploi du colorimètre. — Pour ces raisons, le dosage direct de l'iode fixé sur l'hydrate de carbone n'étant pas possible, nous avons eu recours à un moyen indirect, qui consiste à déterminer les intensités de coloration que le glycogène présente, sous l'influence de l'iode, dans différentes conditions. Les intensités de coloration peuvent être appréciées d'une manière assez exacte au moyen du colorimètre, et nous avons adopté pour nos recherches le colorimètre de Duboscq [1]. Cet appareil se compose essentiellement de deux godets cylindriques, à fond plan en verre, destinés à recevoir les liquides colorés. Des cylindres de verre plein, mis en mouvement par une crémaillère, descendent dans ces godets et peuvent plonger plus ou moins profondément dans le liquide coloré. Les extrémités de ces cylindres sont parfaitement planes, et la hauteur de la couche de liquide comprise entre le fond du godet et l'extrémité immergée du cylindre plein est indiquée au

[1] Ces expériences ont été commencées avec un appareil mis obligeamment à notre disposition par M. le professeur Depaire, auquel nous tenons à exprimer toute notre gratitude.

moyen d'une graduation munie d'un vernier qui permet de déterminer cette hauteur à un dixième de millimètre près. Les godets sont éclairés par en dessous : la lumière, réfléchie par un miroir, traverse la couche de liquide coloré, puis, à travers le cylindre plein, elle vient se réfléchir contre la paroi d'un prisme oblique et va éclairer le champ d'une lunette. La lumière qui a traversé un godet éclaire seulement la moitié de ce champ. Si un même liquide se trouve dans les deux godets et en même épaisseur de couche, la lumière venant de chacun d'eux étant également colorée, le champ de la lunette présentera une teinte uniforme. Mais si l'un des godets contient une solution plus ou moins colorée, ou si la hauteur de couche de liquide que doit traverser la lumière est plus ou moins grande, le demi-cercle du champ de la lunette correspondant à ce godet présentera une coloration plus ou moins intense, et pour obtenir l'égalité de teinte, il faudra abaisser ou remonter le cylindre d'une certaine quantité qu'il sera facile d'évaluer en dixièmes de millimètre. Pour se servir de cet instrument, on place dans l'un des godets le liquide à examiner et dans l'autre un liquide de composition connue, présentant une teinte pareille à celle du liquide en expérience. En faisant mouvoir les cylindres, on produit l'égalité de teinte dans le champ de la lunette et on lit alors les hauteurs de couche de chacun des deux liquides, en se basant sur ce que l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la hauteur de la couche de liquide. Nous avons vérifié cette loi avec des solutions de vésuvine et des solutions d'iode plus ou moins diluées.

Mais lorsque nous avons voulu la vérifier avec nos solutions d' « iodure de glycogène », nous n'avons plus constaté cette proportionnalité. En mettant dans les deux godets du colorimètre une même solution de glycogène colorée par l'iode, l'égalité de teinte du champ de la lunette était obtenue lorsque les hauteurs de solution colorée, traversée par la lumière, étaient les mêmes, et cette égalité pouvait être réalisée sans peine à un dixième de millimètre près. Nous avons alors ajouté au liquide de l'un des godets son volume d'eau distillée, afin de vérifier si l'intensité de la teinte avait diminué exactement de moitié, c'est-à-dire s'il fallait une

hauteur de liquide double pour obtenir l'égalité de teinte. Mais celle-ci ne se produisait que quand la hauteur de liquide était approximativement le triple du liquide non dilué. En additionnant le liquide déjà dilué d'un nouveau volume d'eau distillée, l'égalité de coloration avait lieu seulement lorsque la couche de ce liquide était six fois plus considérable.

Ces essais ont été renouvelés à plusieurs reprises et nous ont constamment donné des résultats identiques. Dans ces expériences, tout se passe comme si l'addition d'eau enlevait au glycogène une partie de l'iode qui y était fixé.

Adoption d'un liquide type. Coefficient de coloration. — Ayant constaté cette grande variabilité de la teinte de l'iodure de glycogène sous l'influence de l'addition d'eau et sous l'influence de diverses autres causes que nous signalerons plus loin, nous avons renoncé à l'emploi, comme liquide de comparaison, d'une solution de glycogène de concentration connue, additionnée d'une quantité déterminée d'iode dans l'iodure de potassium.

Le liquide de comparaison ou liquide type auquel nous voulions rapporter les colorations obtenues dans des conditions variées avec les divers « iodures de glycogène » nous a été fourni par la solution d'iode dans l'iodure de potassium, qui présente une coloration très comparable, sous certaine épaisseur de couche, à la teinte des solutions d' « iodure de glycogène ». La formule que nous avons adoptée pour cette solution type d'iode est la suivante : iode sec, 1 gramme; iodure de potassium, 5 grammes; eau distillée en quantité suffisante pour obtenir 100 c. c. de solution. En couche très mince, au colorimètre, la teinte de l' « iodure de glycogène » est plus chamois que celle de cette solution d'iode examinée sur une faible épaisseur; lorsque la couche devient trop considérable, la coloration du glycogène apparaît plus rouge. L'épaisseur la plus favorable pour comparer ces liquides est celle qui donne une teinte jaune-brun. Elle permet de comparer assez facilement les deux solutions avec une approximation d'un dixième de millimètre.

Dans chaque expérience, nous avions toujours soin de renouveler le liquide type. Cette précaution est très nécessaire, car dans le

récipient du colorimètre, l'iode s'évapore peu à peu. D'un autre côté, les solutions de glycogène destinées à être examinées au colorimètre ne doivent pas être trop concentrées. Une concentration de 0,5 °/₀ est déjà trop forte, et l'iode, dans ce cas, produit une coloration trop foncée. Nous nous sommes le plus souvent servi d'une solution à 0,2 °/₀, qui prend par l'iode une teinte d'une intensité à peu près égale à celle d'une solution d'iode à 1 °/₀₀.

Lorsque nous aurons à indiquer les intensités de teinte de liquides glycogéniques quelconques colorés par l'iode, nous rapporterons chaque fois cette intensité à l'épaisseur de la solution d'iode type nécessaire pour obtenir une coloration égale à celle produite par une couche de 10 millimètres d'épaisseur de ce liquide glycogénique.

Assez souvent nous aurons à employer le terme de *coefficient de coloration*. Nous entendons par là le rapport de la teinte du liquide type (calculée en millimètres d'épaisseur de couche) à la concentration pour cent de la solution à examiner. Ce coefficient peut se représenter par la formule

$$K = \frac{i}{c},$$

où i indique l'intensité observée en millimètres de solution type, et c la concentration de la solution en expérience. Pour les matières colorantes ordinaires, ce coefficient est un nombre constant, ainsi que cela découle de la proportionnalité que nous avons énoncée plus haut au sujet de la vésuvine ou de l'iode. En effet, en diluant de son volume d'eau la solution, $K = \frac{i}{c}$ devient

$$K = \frac{\frac{i}{2}}{\frac{c}{2}} = \frac{i}{c}.$$

Avec les solutions d'iodure de glycogène, ce coefficient ne reste pas constant, et nous avons dit que pour un volume d'eau ajoutée, la teinte n'était plus que le tiers environ de la teinte primitive. Par l'addition de deux volumes d'eau, cette teinte devient à peu près le

sixième. Dans ces conditions, la formule $K = \frac{i}{c}$ devient, pour un volume d'eau ajoutée,

$$K' = \frac{\frac{i}{3}}{\frac{c}{2}} = \frac{2i}{3c} = \frac{2}{3}\frac{i}{c}.$$

Avec deux volumes d'eau, le coefficient devient

$$K'' = \frac{\frac{i}{6}}{\frac{c}{3}} = \frac{3i}{6c} = \frac{1}{2}\frac{i}{c}.$$

Nous voyons ainsi que les valeurs K, K′, K″ décroissent progressivement, à mesure que la dilution devient plus grande.

Marche de la coloration en présence de quantités croissantes d'iode. — Nous avons vérifié, en premier lieu, si nos divers glycogènes donnaient des teintes semblables en présence de mêmes quantités d'iode dans l'iodure de potassium.

Les tableaux suivants indiquent les intensités de coloration obtenues en ajoutant a 10 c. c. des solutions de glycogène à 0,2 °/₀ successivement 10, 20, 30 et 40 gouttes d'une solution iodée à 1 °/₀, après quoi une nouvelle addition d'iode ne produit plus d'augmentation de la teinte. La solution d'iode à 1 °/₀ que nous avons toujours employée pour colorer le glycogène renfermait : iode sec, 1 gramme ; iodure de potassium, 1,5 gramme ; eau distillée, quantité suffisante pour obtenir 100 c. c. de solution. Dans cette formule, nous avons réduit autant que possible la quantité d'iodure de potassium, parce que ce sel diminue le coefficient de coloration.

Les chiffres du tableau 1A renseignent, en millimètres, l'épaisseur du liquide type nécessaire pour obtenir une coloration égale à la coloration d'une couche de 10 millimètres d'épaisseur de la solution glycogénique additionnée des quantités indiquées d'iode.



Tableau 1A.

ORIGINE DU GLYCOGÈNE.	Nombre de gouttes de la solution d'iode à 1 °/°.			
	10	20	30	40
Lapin	4,7	7,6	10,10	11,6
Amanita	4,2	7,5	10,10	11,7
Bolet.	3,6	6,9	9,5	11,3
Levure.	8,6	12,3	14,9	16,7

Dans le tableau 1B, nous donnons, en millimètres également, l'intensité de la coloration des liquides glycogéniques mêmes, rapportée à 10 millimètres de hauteur de couche du liquide type. Ces quantités sont celles observées directement dans nos essais, car pour plus d'exactitude dans nos diverses déterminations, nous comparions les différentes solutions de glycogène iodé à des hauteurs de liquide type toujours les mêmes. Les chiffres du

Tableau 1B.

ORIGINE DU GLYCOGÈNE.	Nombre de gouttes de la solution d'iode à 1 °/°.			
	10	20	30	40
Lapin	21,1	13	9,9	8,6
Amanita	24	13,3	9,9	8,5
Bolet.	28	14,5	10,6	8,8
Levure.	11,6	8,1	6,7	6

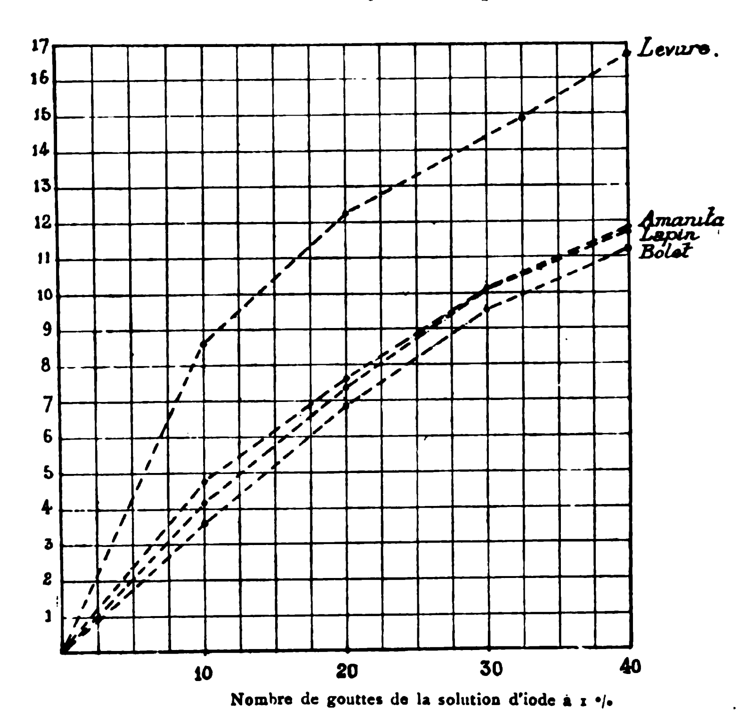
Tome I, 1895.

tableau 1A sont déduits par le calcul de ceux-ci, et nous les indiquons parce que, dans le tracé des courbes des diagrammes que nous donnons, il est plus rationnel de rapporter les colorations à des épaisseurs correspondantes de la solution type, ainsi que nous le faisons également pour le coefficient de coloration.

L'examen de ces tableaux fait voir qu'il existe entre les trois premiers glycogènes une très grande ressemblance. La teinte finale est pour ainsi dire identique, et les courbes des colorations, sous l'influence de quantités croissantes d'iode, ne présentent entre elles de légers écarts qu'au début, lorsque la quantité d'iode est très faible, ainsi que le montre le diagramme. Dans celui-ci, de même

Diagramme 1.

Courbes des intensités de coloration en présence de quantités croissantes d'iode.



que dans tous ceux qui vont suivre, les ordonnées représentent en millimètres d'épaisseur du liquide type les intensités de teinte observées. Les abscisses renseignent les conditions d'expérience et sont donc variables dans les différents diagrammes.

Ces écarts au commencement de la courbe s'expliquent aisément par la difficulté d'obtenir des solutions absolument identiques les unes aux autres, par suite de la grande contingence de ces colorations par l'iode. Nous tenions compte dans nos pesées des quantités d'eau et de sels contenues dans nos glycogènes. Ceux-ci n'étaient jamais séchés à l'étuve, dans la crainte d'une modification légère de leurs propriétés sous l'influence d'une température de 100° à 105° continuée pendant quelque temps, et nous les conservions dans le vide en présence d'acide sulfurique concentré. Une petite quantité des produits ainsi traités, chauffée à 110° jusqu'à poids constant, pesée, puis incinérée, nous permettait de déterminer la quantité d'eau et de cendres contenues par le glycogène séché dans le vide. Seulement, exposé à l'air, celui-ci a une grande tendance à reprendre une certaine proportion d'eau; et si rapide que soit la pesée, à la fin de celle-ci, le corps a déjà absorbé un peu d'humidité.

Quant aux sels contenus dans nos glycogènes, leur proportion était variable et cette inégalité dans la teneur en matières fixes peut aussi expliquer les légères variations de teinte. En outre, d'autres causes pouvaient intervenir aussi : de légères différences dans la température, dans le volume des gouttes d'iode ajoutées et enfin dans la coloration même des divers glycogènes, coloration qui est sujette à de légères variations, et qui est assez difficilement comparable à la teinte du liquide type, lorsque la quantité d'iode est très faible. Avec très peu d'iode, les solutions étendues de glycogène prennent des colorations chamois qui, pour être comparées à la teinte type, devaient être modifiées au moyen de verres colorés en jaune-brun faible.

En ce qui concerne le glycogène de Levure, le diagramme ci-dessus montre qu'il n'est pas identique aux autres. La teinte qu'il donne avec l'iode est plus intense : les premières gouttes du réactif iodé donnent déjà une coloration assez foncée et la teinte finale est

aussi plus forte que chez les trois premiers glycogènes. Peut-on attribuer cette différence présentée par le glycogène des Levures aux diverses causes d'erreur signalées plus haut ? Nous ne le pensons pas; cette différence est trop marquée, et il faut admettre que le glycogène des Levures se comporte un peu différemment vis-à-vis de l'iode.

Diminution du coefficient de coloration par l'addition d'eau. — Nous avons signalé plus haut que l'addition d'eau à une solution de glycogène colorée par l'iode produit une diminution de la teinte au delà de la proportion que la dilution fait prévoir, et nous avons appelé coefficient de coloration le rapport $\frac{i}{c}$ de l'intensité de la teinte observée, à la dilution de liquide glycogénique. Cette diminution est-elle sensiblement égale chez les divers glycogènes, et le phénomène se produit-il avec la même allure chez celui de Levure que chez les autres?

Pour cette série de recherches, nous nous sommes servi de solutions glycogéniques de même concentration, à 10 c. c. desquelles nous avons ajouté 2 c. c. de la solution d'iode dans l'iodure de potassium à 1 °/₀. Nous déterminions comme précédemment la teinte de ces liquides en prenant comme étalon celle d'une couche de 10 millimètres d'épaisseur de la solution type. Ensuite chaque liquide était successivement dilué de un, puis de deux volumes d'eau distillée, et la teinte chaque fois comparée à celle du liquide type.

Les tableaux ci-après donnent les intensités de coloration en millimètres d'épaisseur de couche de liquide type dans le tableau 2A, et en millimètres d'épaisseur de couche de solution de glycogène dans le tableau 2B. Les colonnes 4 et 6 du tableau 2A indiquent les coefficients K′ et K″ de coloration, tandis que les mêmes colonnes du tableau 2B donnent le rapport des teintes de la solution diluée à la solution primitive.

Tableau 2A.

ORIGINE DU GLYCOGÈNE. 1	Teinte de la solution primitive. 2	Teinte de la solution diluée de 1 volume d'eau. 3	Coefficient de coloration $K' = \frac{i}{\frac{1}{2}}$ 4	Teinte de la solution diluée de 2 volumes d'eau. 5	Coefficient de coloration $K'' \frac{i}{\frac{1}{3}}$ 6
Lapin	7,8	2,6	5,10	1,4	4,10
Amanita	7,1	2,5	5,00	1,2	3,60
Bolet.	9	2,9	5,80	1,4	4,10
Levure.	12,3	4,1	8,10	2,4	7,20

Tableau 2B

ORIGINE DU GLYCOGÈNE. 1	Teinte de la solution primitive. 2	Teinte de la solution diluée de 1 volume d'eau 3	Rapport des teintes des colonnes 3 et 2. 4	Teinte de la solution diluée de 2 volumes d'eau. 5	Rapport des teintes des colonnes 5 et 2. 6
Lapin	12,8	36	2,81	70,4	5,42
Amanita	14,1	40,9	2,90	82,8	5.87
Bolet.	11,1	34,4	3,09	70	6,30
Bolet.	»	»	2,90	»	5 77
Bolet.	»	»	2,85	»	6,15
Levure	8.1	22.2	2,74	41,3	5,09

Le tableau 2A montre que les glycogènes de Champignons ont un coefficient de coloration qui est très sensiblement le même que celui du lapin. Chez la Levure, ce coefficient est beaucoup plus élevé, mais la diminution progressive de valeurs K, K′, K″ se fait

suivant une marche analogue chez tous. Dans le tableau 2B, où le rapport des teintes est donné, on voit qu'il est relativement constant pour une même dilution. La Levure toutefois donne des valeurs un peu plus faibles, mais cependant l'allure générale du phénomène reste la même que chez les autres glycogènes. Les chiffres obtenus avec le Bolet sont un peu trop forts dans une des expériences. L'écart qu'ils présentent d'avec ceux du lapin ou de l'*Amanita* doit être attribué aux conditions d'expérience, car, dans des recherches antérieures, nous avons obtenu des valeurs voisines de celles des autres glycogènes et dont nous donnons le rapport dans le tableau 2B. Nous avons toutefois omis d'indiquer les intensités de teinte observées dans ces essais, parce que celles-ci n'avaient pas été rapportées à la teinte de la solution type d'iode à 1 °/₀; elles avaient été observées comparativement à une solution, arbitrairement choisie, de glycogène coloré par l'iode. Mais, quoique le liquide de comparaison ait été différent dans ces deux expériences, le rapport entre les intensités de teinte des liquides dilués d'un et de deux volumes d'eau est resté néanmoins le même.

Il ne faut pas perdre de vue que ce rapport n'est comparable que lorsqu'on opère dans des conditions identiques. Si l'on modifie la teneur en glycogène du liquide initial, et surtout si la quantité d'iode ajoutée à ce liquide est augmentée ou diminuée, le rapport peut subir des variations assez considérables.

Nous venons de déterminer ce rapport pour des dilutions d'un et de deux volumes d'eau, mais que devient ce rapport et comment varie-t-il lorsque la dilution est plus progressive et poussée plus loin? Pour répondre à cette question, nous avons fait deux séries d'expériences en employant le glycogène de l'*Amanita*, qui, dans l'expérience précédente, a montré une très grande analogie avec celui du lapin. Une certaine quantité d'une solution à 1 °/₀ de cet hydrate de carbone a été additionnée d'un égal volume de la solution renfermant 1 °/₀ d'iode. On obtient ainsi un liquide très foncé dans lequel le glycogène se trouve en présence d'un excès d'iode. A 10 c. c. de ce mélange, nous avons ajouté successivement des quantités croissantes d'eau distillée : le tableau 3 donne l'intensité, rapportée au liquide type, de la coloration observée avec

chaque dilution. La ligne 3 indique la quantité de glycogène contenue dans 100 c. c. de chaque dilution, et la ligne 4 renseigne le coefficient de coloration. Dans la ligne 5 sont indiquées les intensités observées au colorimètre et mesurées en hauteur de solution glycogénique.

Tableau 3

1. Quantité d'eau ajoutée à 10 c c. du liquide primitif.	0	2 c.c.	4 c.c.	6 c.c.	10 c.c.	15 c c.	20 c.c.	25 c.c.
2. Teinte obtenue rapportée à la solution type.	5,7	4,4	3,6	3,3	2,4	1,8	1,3	0,9
3. Quantité de glycogène °/₀ contenue dans le liquide.	0,5	0,416	0,357	0,312	0,250	0,200	0,166	0,142
4. Coefficient de coloration $K = \frac{i}{c}$.	11,4	10,5	10	10,5	9,6	9,0	7,8	6,3
5. Teinte observée directement.	1,7	2,2	2,8	3,3	3,9	5,4	7,3	10,4

Ce tableau montre encore la diminution du coefficient de coloration comme résultat de la dilution. Les valeurs obtenues pour ce coefficient dans les cas de 4 et 6 c. c. d'eau ajoutés sont erronées et sont dues à une cause d'erreur que nous ne pouvons préciser.

Dans l'expérience suivante, nous avons ajouté à un volume déterminé d'une solution contenant également 0,5 °/₀ de glycogène et d'iode, successivement un, deux, trois, etc., volumes d'eau dis-

tillée. Les résultats en sont consignés dans les tableaux 4 et le diagramme 2.

Tableau 4A.

1. Nombre de volumes d'eau ajoutés.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2. Teinte obtenue rapportée à la solution type.	5,7	2,8	1,5	1	0,7	0,5	0,4	0,3	0,26	0,22
3. Quantité de glycogène °/₀ contenue dans le liquide.	0,5	0,25	0,166	0,125	0,100	0,083	0,071	0,062	0,055	0,050
4. Coefficient de coloration.	11,4	11,2	9	8	7	6	5,6	4,8	4,7	4,4

Dans le tableau suivant, nous donnons les valeurs observées au colorimètre, qui nous ont permis de déduire les chiffres du tableau précédent.

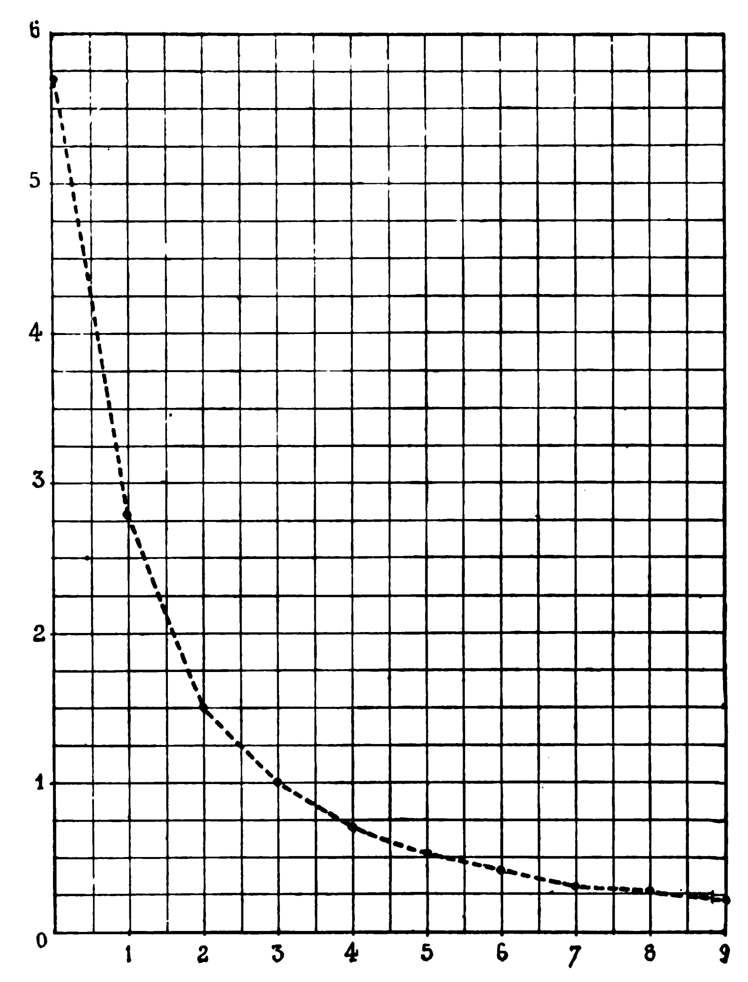
Tableau 4B.

1. Nombre de volumes d'eau ajoutés.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2. Teinte observée directement.	1,8	3,6	6,7	10,1	14,8	18,9	24,1	30,6	37,6	44,2
3. Quantité de glycogène °/₀ contenue dans le liquide.	0,5	0,25	0,166	0,125	0,100	0,083	0,071	0,062	0,055	0,050

Le diagramme 2 montre la rapidité avec laquelle décroît la teinte sous l'influence de la dilution. Les abscisses indiquent le nombre de volumes d'eau ajoutés.

Diagramme 2.

Courbes de l'intensité de coloration en présence de quantités croissantes d'eau.



Dans les recherches dont nous venons de donner les résultats, les proportions de glycogène et d'iode variaient à chaque addition d'eau. L'expérience suivante a pour but de déterminer l'intensité des colorations obtenues en ajoutant à des volumes égaux de liquides contenant toujours la même quantité d'iode, des poids variables de glycogène. La proportion d'iode présente dans le liquide était de 0,25 °/₀₀, et les quantités de glycogène ajoutées ont varié de 0 à 0,75 °/₀₀.

Le tableau n° 5 indique la concentration en glycogène du liquide et les intensités rapportées au liquide type; la troisiéme ligne renseigne les chiffres obtenus au colorimètre et dont sont déduits ceux de la deuxième ligne.

Tableau 5.

1. Quantité °/₀ de glycogène ajoutée au liquide.	0	0 01	0 025	0.05	0,075	0,1	0,25	0,50	0,75
2. Teinte obtenue rapportée à la solution type.	0 22	0,39	0,54	0,79	1,1	1,4	2,7	4.5	6,6
3. Teinte observée directement au colorimètre.	44 9	25 3	18,3	12.6	9,2	6,9	3,6	2,0	1,5
4. Coefficient de coloration $K = \frac{i}{c}$.	»	39,0	21,6	15,8	14,6	14	10,8	9	8,8
5 Coefficient de coloration $K = \frac{i'}{c}$.	»	17	12,8	11,4	11,4	11,8	10	8.3	8

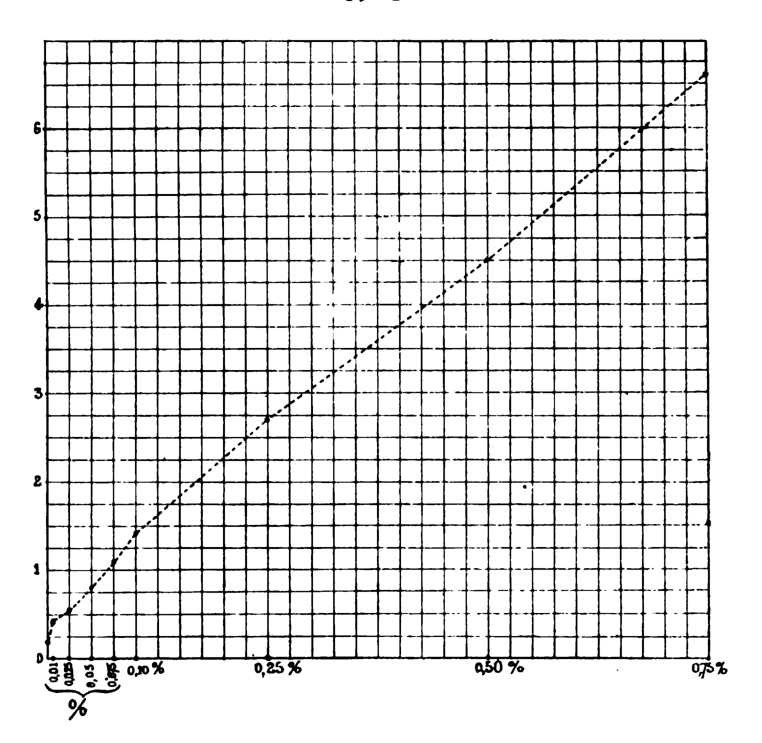
Dans les lignes 4 et 5, nous donnons les coefficients de coloration, calculés dans la ligne 4 d'après la valeur brute de i et dans la

ligne 5 en déduisant des chiffres observés la valeur due à la teinte de l'iode, ce qui donne des valeurs i' égales à i moins 0,22, qui est l'intensité de la teinte de l'iode seul.

Le diagramme suivant représente la courbe de l'intensité croissante de coloration sous l'influence des quantités de plus en plus grandes de glycogène, les abscisses indiquant la concentration en glycogène.

Diagramme 3.

Courbe de l'intensité de la coloration en présence de quantités croissantes de glycogène.



Ainsi que l'on peut facilement s'en rendre compte par l'examen de ces tableaux et de ces diagrammes, les colorations de l' « iodure

de glycogène » ont des intensités des plus variables, et jamais le coefficient de coloration n'est constant. Ce coefficient dépend non seulement des quantités respectives d'hydrate de carbone et d'iode en présence, mais encore de la proportion d'eau, et nous voyons que celle-ci joue un rôle très considérable.

Cette influence de la dilution sur la couleur du mélange d'iode et de glycogène se remarque aussi avec les solutions de dextrines colorées par ce corps. L'addition d'eau fait également pâlir la teinte, et nous avons répété avec des solutions de dextrines la plupart des expériences décrites plus haut. Les résultats que nous avons obtenus ont été les mêmes, et il est inutile d'en reproduire ici le détail.

L' « iodure d'amidon » a été également examiné à ce point de vue. Il ne présente pas cette sorte de dissociation étudiée plus haut. Nous avons dilué d'un certain nombre de volumes d'eau des solutions plus ou moins fortement colorées d'iodure d'amidon, et nous avons déterminé la teinte de ces dilutions comparativement aux liquides primitifs non dilués. Dans les limites des proportions que nous avons essayées, le coefficient de coloration est resté invariable, même quand la coloration du liquide était très faible. Jamais nous n'avons observé avec l' « iodure d'amidon » les phénomènes que présentent le glycogène ou la dextrine. L'eau seule ne semble pas avoir d'action appréciable sur l' « iodure d'amidon » une fois formé, mais nous verrons plus loin que l'eau additionnée d'alcool agit sur lui de la même façon que l'eau seule sur l' « iodure de glycogène ».

Action de diverses substances en solution sur la coloration de l' « iodure de glycogène ». — Divers auteurs, ainsi que nous l'avons dit plus haut, ont signalé l'action modificatrice qu'exercent certaines substances sur l'intensité de la teinte du glycogène coloré par l'iode. Nous avons vérifié l'influence de quelques-uns de ces corps sur des solutions de glycogène de Bolet à 1 °/₀₀. A un volume déterminé de ce liquide, on ajoutait la substance et l'on y versait ensuite peu à peu une solution d'iode dans l'iodure de potassium, en examinant au colorimètre la teinte produite. L'examen était



fait après l'addition à 10 c. c. de liquide de 4, 8, 12, 16, 20, 30 et 40 gouttes de la solution iodée à 1 °/₀.

Dans le tableau n° 6 sont renseignés les résultats obtenus avec l'iodure de potassium, l'alcool et le chlorure de sodium. Ces exemples pourraient être multipliés, mais ceux-ci suffisent à rendre évidente l'influence considérable de beaucoup de matières. A dessein, nous avons fait usage de concentrations faibles, afin de montrer que de petites quantités de substances chimiques peuvent augmenter ou diminuer très notablement la teinte.

Les chiffres dans les colonnes 2, 3, 4 et 5 indiquent en millimètres la hauteur de couche de liquide type dont l'intensité de teinte est la même que celle d'une couche de 10 millimètres d'épaisseur du liquide observé.

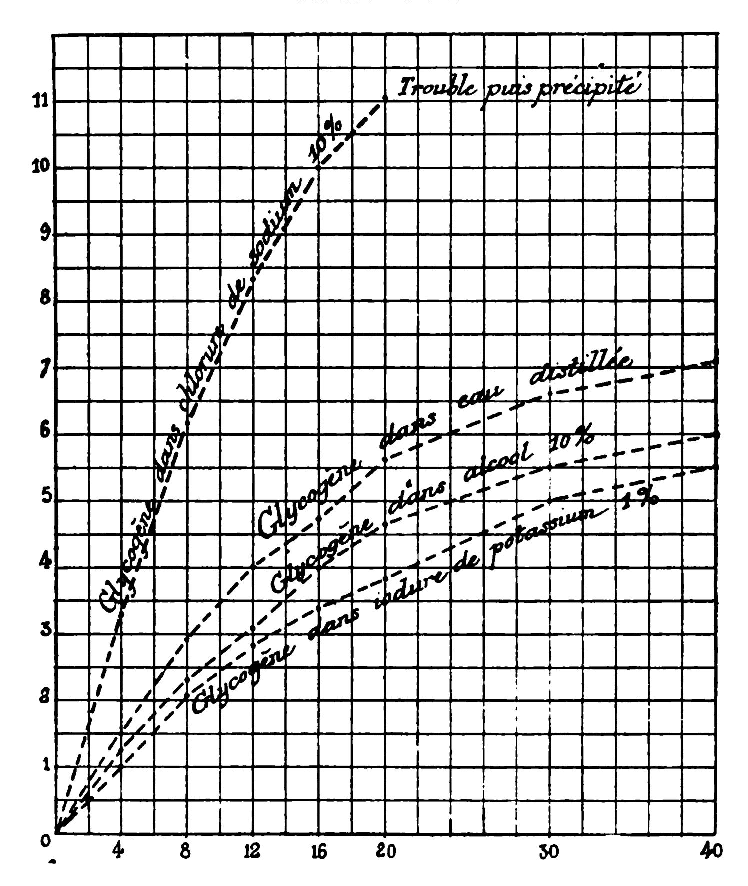
Tableau 6.

Nombre de gouttes de IKI à 1 °/₀ ajoutées.	10 centimètres cubes solution de glycogène à 1 °/₀₀.	Solution glycogénique add. de 1 °/₀ KI.	Solution glycogénique add. de 10 °/₀ alcool.	Solution glycogénique add. de 10 °/₀ NaCl.
4	1.5	1	1,2	3,3
8	2.9	2.1	2,3	6,2
12	4	2,8	3,1	8,3
16	4,7	3.4	4,0	10 0
20	5,7	3,8	4.7	11,1
30	6.6	5	5 5	Liquide très trouble.
40	7,1	5,5	6,0	Précipité

Le diagramme suivant fait mieux ressortir encore l'influence des sels. Les abscisses indiquent les quantités croissantes d'iode ajouté.

Diagramme 4.

Action modificatrice de quelques substances sur la coloration du glycogène additionné d'iode.



Dans l'expérience avec le chlorure de sodium, on voit que le glycogène uni à l'iode s'est précipité lorsque la quantité d'iode est devenue assez forte. Il y a là un phénomène analogue à celui qui se produit avec l' « iodure d'amidon ». Mais dans ce dernier cas, celui-ci est déjà complètement précipité sous l'influence de quan-

tités relativement faibles de sels ou d'acides, tandis que la précipitation de l' « iodure de glycogène » nécessite une concentration plus forte et est, de plus, toujours incomplète. La coloration du liquide surnageant montre, en effet, qu'une certaine quantité de glycogène reste néanmoins en solution. En outre, alors que l' « iodure d'amidon » est insoluble ou à peu près dans l'eau distillée froide, l' « iodure de glycogène » se redissout avec la plus grande facilité, et cette allure ne permet pas de le soumettre à des dosages chimiques précis.

La dextrine se comporte aussi de la même manière que le glycogène, et elle subit d'une façon tout aussi intense l'action modificatrice de nombreuses substances.

L'amidon, de son côté, offre plus de fixité. Nous avons signalé antérieurement que l' « iodure d'amidon » ne présentait pas de décomposition sensible sous l'influence de quantités de plus en plus grandes d'eau ajoutée. Nous avons également recherché si l'iodure de potassium ajouté à des solutions de concentrations diverses occasionnait une sorte de dissociation. Les résultats ont été négatifs. Toutefois, il faut se rappeler que les sels précipitent très rapidement l' « iodure d'amidon », et dans le cas de l'iodure de potassium, la précipitation se produit déjà en présence de moins de 1 °/₀ de ce sel. La comparaison des teintes au colorimètre devient difficile à faire, parce que la coloration sous l'influence des sels est légèrement modifiée et devient plus violette.

L'influence de l'alcool est plus intéressante à étudier. Il ne produit pas aussi rapidement la précipitation de l'iodure d'amidon, et en solution diluée, il provoque la même dissociation que celle observée avec l'iodure de glycogène par l'addition d'eau. Si à une solution d'iodure d'amidon on ajoute 10 °/₀ d'alcool, on ne remarque qu'une faible diminution de la teinte. Si alors on dilue cette solution de son volume d'eau alcoolisée à 10 °/₀, il se produit un affaiblissement marqué de la coloration. En employant de l'alcool à 20 °/₀, le phénomène devient alors très net. Si l'on compare les teintes de deux liquides à même concentration d'iodure d'amidon et dont l'un renferme 20 °/₀ d'alcool, les intensités sont dans le rapport de 10 à 12. Ajoutons à la solution alcoolique un

volume égal d'eau alcoolisée à 20 °/₀, les intensités des deux liquides seront alors dans le rapport de 10 à 28; et si l'on ajoute encore un volume d'eau à 20 °/₀ d'alcool, les hauteurs de couches liquides pour obtenir l'égalité de teinte deviendront respectivement 10 et 58,9. On peut donc conclure qu'à la température ordinaire, l'eau alcoolisée décompose l' « iodure d'amidon » de la même manière que l'eau pure décompose l' « iodure de glycogène ». Il en résulte, en d'autres termes, qu'il n'y a entre les deux corps qu'une différence dans le degré de stabilité lorsqu'ils se trouvent dans des conditions identiques.

On peut appliquer à l' « iodure d'amidon » le terme de coefficient de coloration avec la même signification que nous lui avons donnée à propos du glycogène coloré par l'iode, et nous dirons donc que l'eau alcoolisée en abaisse le coefficient de coloration.

Action de la chaleur. — L'un des caractères essentiels du glycogène coloré par l'iode est sa décoloration sous l'influence de la chaleur. Tous nos glycogènes présentaient cette propriété, dont nous nous sommes également servi pour nous assurer de leur identité.

Nous avons suivi la marche du phénomène sur des solutions à 0,2 °/₀ de glycogène de lapin, de moule, d'*Amanita*, de Bolet, de *Phallus* et de Levure. A 10 c. c. de chacune des solutions, nous avons ajouté 40 gouttes d'une solution d'iode à 1 °/₀ dans l'iodure de potassium. Les liquides colorés ont été mis dans des tubes à réactifs d'égal diamètre, plongeant tous dans de l'eau contenue dans un grand vase de Bohême. Celui-ci était chauffé lentement et l'on observait la marche de la température sur un thermomètre placé dans un tube à réactif contenant 10 c. c. d'eau distillée additionnée d'une quantité d'iode égale à celle que renfermaient les solutions de glycogène. Ce tube servait en même temps de témoin.

A la température ordinaire, toutes les solutions de glycogène présentaient la même teinte brun-rouge, sauf celle de glycogène de Levure, dont la teinte était plus foncée.

Sous l'influence de la chaleur, les glycogènes de lapin, de moule, de Bolet, d'*Amanita* et de *Phallus* se comportent de la même manière. Entre 35°-38°, les colorations deviennent plus claires,

mais elles ne commencent à virer vers le jaune qu'à partir de 55°. Vers 58 60°, la teinte devient difficilement appréciable; à 63°, la décoloration est presque complète, et à partir de 65°, toute élévation de température ne fait plus varier la teinte, qui est devenue presque aussi pâle que celle du tube témoin.

En laissant refroidir lentement les liquides, on constate la réapparition de la teinte à partir de 60°. Très faible d'abord, elle s'accentue peu à peu, mais avec un retard sur la température de décoloration correspondante. A 50°, la coloration équivaut à peine à celle du liquide primitivement chauffé à 55°, et il y a ainsi un retard de 5° à 6° dans la coloration. La cause de ce retard est due à la volatilisation d'une partie de l'iode sous l'influence de la température. Lorsque les liquides sont complètement refroidis, ils ont repris une teinte à très peu près semblable à celle du liquide primitif.

La coloration du glycogène de Levure était légèrement différente, à froid, de celle des autres glycogènes. Sa température de décoloration s'écarte également des chiffres que nous venons de donner; elle est plus élevée. Par la chaleur croissante, on constate que l'intensité de la teinte diminue graduellement, comme chez les autres glycogènes. Mais alors que ceux-ci, vers 58-60°, sont déjà presque décolorés, celui de Levure présente encore une teinte brune très nette, presque aussi intense que celle d'une solution d'iode à 1 °/₀. A 63-65°, elle s'est beaucoup affaiblie, et la décoloration est complète à 72-73°. En laissant refroidir, la teinte reparaît. Cette recoloration se fait de la même manière et avec le même retard que chez les autres glycogènes.

On peut déjà constater, d'après ce qui vient d'être dit, que la décoloration par la chaleur n'est pas un phénomène brusque, se produisant à une température déterminée. Elle se fait insensiblement, le glycogène présentant une avidité pour l'iode de moins en moins grande à mesure que s'élève la température, et la décoloration complète à 65° pour la plupart des glycogènes en solutions étendues peut s'expliquer en admettant qu'à cette température, le glycogène n'a plus d'affinité pour l'iode.

Afin de pouvoir tracer la courbe de la décoloration et de la réapparition de la teinte, nous avons fait une nouvelle recherche, dans

le but de déterminer le plus exactement possible, à diverses températures, l'intensité de la teinte comparativement à la coloration du liquide type dont nous avons fait usage dans les essais antérieurs.

Nous avons opéré avec une solution de glycogène d'*Amanita* à 1 °/₀₀ renfermant 0,025 °/₀ d'iode. Les intensités de teinte ont été déterminées au colorimètre. Le récipient dans lequel se trouvait la solution de glycogène plongeait dans un autre récipient disposé de façon à pouvoir y faire passer un courant continu d'eau graduellement chauffée. La température était donnée par un thermomètre placé dans le liquide glycogénique.

Le tableau ci-dessous renseigne les intensités observées aux températures indiquées, pendant la décoloration et pendant la recoloration.

Tableau 7.

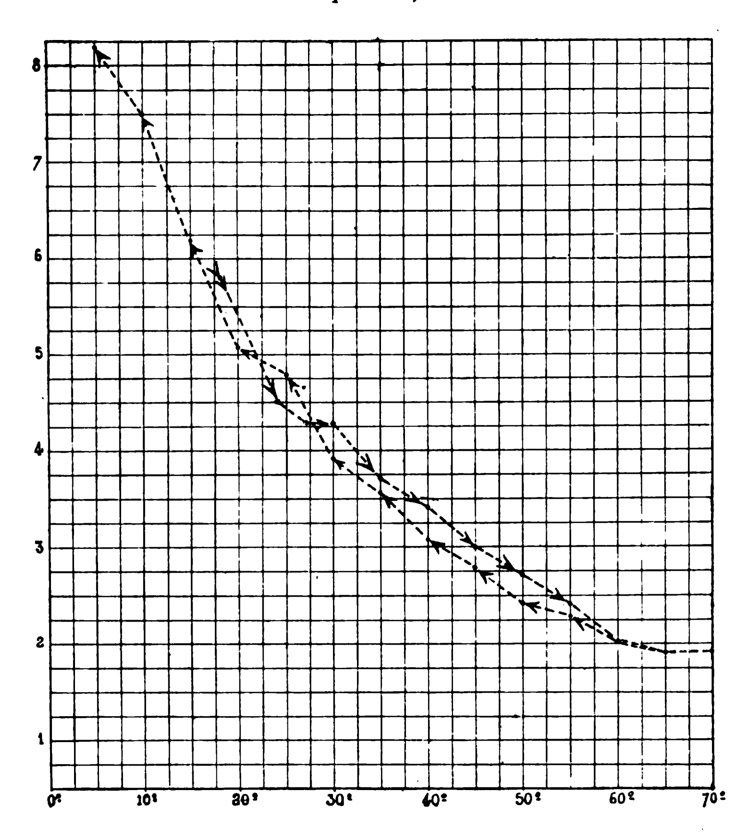
ÉCHAUFFEMENT.		REFROIDISSEMENT.	
Température.	Intensité de teinte.	Température.	Intensité de teinte.
18°	5,8	65°	1,9
24°	4,5	60°	2
27°	4,3	55°	2,3
30°	4,3	50°	2,4
35°	3,7	45°	2,8
40°	3,4	40°	3,1
45°	3	35°	3,6
50°	2,7	30°	3,9
55°	2,4	25°	4,8
60°	2	20°	5,1
65°	1,9	15°	6,2
		10°	7,5
		5°	8,2

Les chiffres du tableau ci-contre et les courbes du diagramme montrent bien la continuité du phénomène. On constate, en outre,

qu'à la température ordinaire, la coloration n'a pas atteint son maximum et qu'elle continue à augmenter considérablement jusque o°. On remarque également qu'ici, dans le refroidissement, les mêmes teintes reparaissent assez exactement à la même température qu'elles avaient disparu. Il n'y a plus ce retard de 5° observé dans l'expérience précédente, et qui était dû à ce qu'une partie de l'iode s'était volatilisée pendant l'échauffement des liquides en tubes ouverts.

Diagramme 5.

Courbe de la décoloration du glycogène iodé par la chaleur et de la réapparition de la teinte par le refroidissement.



Influence de l'alcool sur la température de décoloration. — Les substances qui modifient l'intensité de la teinte du glycogène iodé à la température ordinaire exercent aussi une action sur la température de décoloration, pouvant l'élever ou l'abaisser. A ce point de vue, l'influence de l'alcool est particulièrement intéressante. On sait que dans l'alcool absolu, et même dans l'alcool à 80 °/₀ ou 90 °/₀, l'iode ne colore ni le glycogène ni l'amidon. Lorsque l'alcool est plus faible, inférieur à 30 °/₀, la coloration se produit, et avec d'autant plus d'intensité que l'alcool se trouve à plus faible concentration.

Si l'on détermine le point de décoloration par la chaleur de solutions plus ou moins alcooliques, on constate qu'il est d'autant plus bas que la teneur en alcool est plus forte, et déjà avec 40 °/₀ d'alcool, il n'y a plus de coloration notable à la température ordinaire. Nous avons recherché si, en abaissant la température, la coloration apparaissait dans cette solution et dans d'autres plus riches en alcool. Le résultat a été affirmatif.

Nous avons opéré avec du glycogène de Bolet en solution à 0,2 °/₀. Cette faible concentration a été préférée afin d'éviter une précipitation par l'alcool. Le glycogène, en effet, est précipité par deux volumes d'alcool; mais, lorsque la solution est assez concentrée, une séparation se produit déjà avec beaucoup moins d'alcool et elle est encore accélérée par la présence de sels. Ainsi, nos solutions à 0,2 °/₀, qui, dans l'alcool à 60 °/₀ employé seul, ne présentaient pas de précipité, mais avaient un aspect laiteux, laissaient se déposer la plus grande partie du glycogène par l'addition de l'iode dans l'iodure de potassium.

Nous avons consigné dans le tableau n° 8 les températures de décoloration de solutions renfermant toujours 0,2 °/₀ de glycogène et des quantités croissantes d'alcool.

On voit, d'après ce tableau, combien la température de décoloration tombe rapidement. Avec 40 °/₀ d'alcool, il faut refroidir la solution vers 0° pour la voir se colorer. En présence de 45 °/₀ d'alcool, presque tout le glycogène est précipité; mais ce glycogène, qui était presque incolore à 0°, s'est coloré en brun foncé à — 18°. A cette même température, le glycogène dans l'alcool à 50 °/₀ et à

60 °/₀ n'accusait qu'une teinte légèrement jaunâtre, plus faible dans l'alcool plus concentré. Quant au glycogène en présence d'alcool à 80 °/₀, il est resté complètement incolore. Nous n'avions pas à notre disposition de moyens d'obtenir une température plus basse que — 18°, et nous n'avons pu vérifier si, en continuant d'abaisser la température, le glycogène était coloré par l'iode en présence de quantités d'alcool supérieures à 50 °/₀. A notre avis, d'après le tableau ci-dessous, il ne doit y avoir aucun doute à cet égard. Toutefois, il serait intéressant de pouvoir déterminer expérimentalement les températures auxquelles le phénomène se produit et vérifier s'il a lieu également dans l'alcool absolu.

Tableau 8.

Teneur en alcool.	0	10 °/₀	20 °/₀	30 °/₀	35 °/₀	40 °/₀	45 °/₀	50 °/₀	60 °/₀	80 °/₀
Température de décoloration.	65°	50°	40°	31°	26°	0°	− 18°	presque incolore à − 18°		incolore à − 18°

L' « iodure d'amidon » se comporte, à ce point de vue, comme le glycogène iodé. Sa température de décoloration est plus élevée, et la concentration de la solution joue ici un très grand rôle.

Mais lorsque l'on y ajoute des quantités croissantes d'alcool, la température de décoloration diminue rapidement et, comme avec le glycogène, en présence d'un certain titre en alcool, on n'obtient plus de coloration à la température ordinaire. Ici aussi, il serait intéressant de vérifier, par l'expérience, si la coloration apparaît dans l'alcool absolu et à quelle température.

Nécessité de la présence d'iode « combiné » pour obtenir la coloration brune. — Mylius [1] a montré que pour obtenir la coloration bleue de

[1] MYLIUS, *Ueber die blaue Iodstärke und die blaue Iodcholsäure.* (ZEITSCHR. F. PHYSIOL. CHEMIE, Bd XI, S. 306, et BER. D. D. CHEM. GES., 1887, S. 688.)

l'amidon par l'iode, il fallait, de toute nécessité, outre l'eau, la présence d'une certaine quantité d'acide iodhydrique libre ou combiné. L'eau iodée, fraîchement préparée au moyen d'iode soigneusement lavé, ne colore pas l'amidon. En ajoutant une trace d'un iodure, ou d'un corps pouvant provoquer la formation d'acide iodhydrique, l'amidon devient bleu.

Cette nécessité de l'iode « combiné » et en quantité déterminée, que semble ne pas admettre complètement Küster[1], existe également pour le glycogène. Nous avons pu l'observer au cours de nos recherches, dans nos expériences de colorimétrie destinées à constater l'influence de l'addition d'eau sur l'intensité de la teinte du glycogène coloré par l'iode. Ayant remarqué que l'iodure de potassium avait une grande influence sur la coloration, nous avions eu l'intention de supprimer l'emploi de la solution d'iode dans ce sel, et de colorer directement le glycogène au moyen d'iode pur, ainsi que le recommande Külz dans le dosage colorimétrique.

Nous avions d'abord essayé l'action de l'iode à froid, en mettant un excès de cristaux d'iode non lavés dans la solution glycogénique. Mais, en opérant ainsi, la coloration se fait très lentement et d'autant plus lentement que la teneur en glycogène est plus faible. Au bout d'un mois, les liquides n'avaient pas encore pris la coloration maximum.

Pour obtenir plus rapidement la coloration, nous avons alors chauffé la solution de glycogène avec de l'iode soigneusement lavé cette fois. Nous avions fait ce lavage pour enlever toute trace d'acide iodhydrique, afin d'éviter une action possible de cet acide sur le glycogène. La solution était chauffée au bain-marie jusqu'à apparition de vapeurs d'iode. On laissait refroidir. Mais par le refroidissement, la teinte brune du glycogène iodé ne se montrait pas et le liquide restait jaune. Pour la faire apparaître, il suffisait alors d'ajouter une goutte d'une solution d'iodure de potassium, d'acide sulfureux ou d'un sulfite alcalin. En se servant d'une solution diluée, on remarque très bien qu'il faut en ajouter une certaine quantité avant d'obtenir le maximum de teinte.

[1] Küster, *loc. cit.*, S. 370.

Cette nécessité de l'iode « combiné » pour provoquer la coloration est une nouvelle preuve de l'analogie de l'action de ce corps sur l'amidon et sur le glycogène.

Conclusions. — Quelle peut être la cause de la coloration brune du glycogène sous l'influence de l'iode? Provient-elle de la formation d'une véritable combinaison chimique, ou bien résulte-t-elle d'un simple mélange des deux corps?

La réponse à cette question est des plus délicates, car si, dans les cas typiques, la combinaison et le mélange sont des choses bien distinctes, il existe cependant entre les deux de nombreux cas de transition. Pour n'en citer que quelques-uns et pour donner à grands traits une idée des formes de transition que l'on peut intercaler entre les termes extrêmes de la série des manifestations diverses de l'affinité, nous mentionnerons : les combinaisons moléculaires à proportions définies, les combinaisons moléculaires à proportions variables, les alliages, les dissolutions et, enfin, les mélanges.

Ce qui caractérise surtout le composé chimique, c'est la fixité du rapport suivant lequel ses divers éléments sont combinés. Mais ce rapport constant, le retrouve-t-on lorsque de l'iode se porte sur l'amidon ou sur le glycogène?

En ce qui concerne le premier de ces hydrates de carbone, on sait que la quantité d'iode qu'il peut fixer varie, suivant les conditions d'expérience, entre 2 et 41 %. Cependant, parmi les innombrables « iodures d'amidon » que l'on peut préparer, on n'en remarque aucun dont les propriétés ne soient pas semblables à celles des autres et qui jouisse d'une fixité plus grande. Cette variabilité dans la proportion d'iode absorbé peut être le résultat d'un mélange de quantités variables d'iodure d'amidon vrai et d'amidon. Mais, jusqu'à présent, rien ne confirme l'existence d'un tel mélange, et dans l'état actuel de nos connaissances, il est rationnel d'admettre avec Duclaux et Küster que l' « iodure d'amidon » n'est pas une vraie combinaison chimique.

Le glycogène également fixe des quantités variables d'iode. Ici les dosages directs ne sont guère praticables, par suite des nom-

breuses causes d'erreur que nous avons signalées au début de ce chapitre. Jusqu'à un certain point, il est possible d'évaluer approximativement la quantité maximum d'iode qu'absorbe le glycogène en se basant sur les intensités de teinte du produit et en admettant que ce maximum est atteint lorsque la coloration n'augmente plus par une nouvelle addition.

D'après nos divers essais, il semble que la proportion maximum d'iode libre absorbée par le glycogène doit être moins de 30 °/₀. Quant à la proportion minimum, il est impossible de l'évaluer, mais nous sommes porté à admettre qu'en dessous de 30 °/₀, le glycogène peut fixer de l'iode en toute proportion.

Les résultats de la plupart de nos recherches pourraient s'expliquer en admettant l'hypothèse de l'existence d'un composé défini, facilement dissociable. Ainsi, la diminution de la coloration sous l'influence de l'eau, de certains corps, de la chaleur, trouverait son explication dans un phénomène de dissociation partielle.

Seulement, les choses se passent-elles ici comme dans le cas d'une dissociation proprement dite, comme, par exemple, la dissociation du carbonate de calcium par la chaleur ou bien celle du sulfate mercurique par l'eau? Dans ces deux cas, pour chaque température déterminée ou pour chaque quantité d'eau employée (les substances étant supposées en quantités suffisantes), il se produit un état d'équilibre qui est indépendant du poids de carbonate de calcium et de chaux vive formée d'une part, ou du poids de sulfate mercurique et de sel basique d'autre part, et qui ne dépend que de la tension de l'anhydride carbonique ou de la teneur du liquide en acide sulfurique.

Cet état d'équilibre ne se constate pas avec l'iodure de glycogène. Dans le tableau 5, nous voyons la teinte du liquide augmenter continuellement par l'addition de nouvelles quantités de glycogène, la proportion d'eau et d'iode restant constante. S'il s'agissait d'une véritable dissociation, il devrait arriver un moment où, l'équilibre étant établi, il ne se produirait plus de modification par une addition quelconque de glycogène.

Étant donnée l'analogie qui existe entre l' « iodure de glycogène » et celui d'amidon, on peut encore avoir recours aux caractères

présentés par ce dernier pour ne pas admettre l'idée d'une dissociation proprement dite; car si celle-ci avait lieu, on devrait, dans les solutions partiellement dissociées d' « iodure d'amidon », pouvoir précipiter, au moyen des sels ou des acides, la portion du corps non décomposée, et l'obtenir chaque fois avec la même composition, ce qui n'a jamais lieu.

L'allure des colorations dans les diverses conditions que nous avons étudiées semble plutôt devoir être considérée comme le résultat d'un conflit permanent entre les molécules de glycogène, d'iode et d'eau. L'iode se partage entre les deux autres corps, suivant des proportions qui sont fonction des quantités d'hydrate de carbone et d'eau en présence; et ce que certains tableaux montrent à l'évidence, c'est l'influence de la proportion plus ou moins grande de l'un ou l'autre. En d'autres termes, ce sont les *masses* qui jouent le rôle principal, et le phénomène peut être envisagé (si l'on désire conserver le mot commode de dissociation) comme une *dissociation par action de masses*, qui obéit aux lois assez complexes des coefficients de partage. A ces coefficients de partage se rattache le cas de la répartition d'un corps entre deux dissolvants qui ne se mélangent pas, et nous pouvons citer comme exemple l'iode en présence d'eau et d'éther. Ce cas est assez voisin de celui de l' « iodure de glycogène », surtout si l'on veut bien se rappeler que le glycogène n'est pas réellement dissous.

De même que l'éther peut enlever tout l'iode dissous dans l'eau, de même, pensons-nous, le glycogène pourrait, ajouté en quantité suffisante, prendre à l'eau la totalité de l'iode qu'elle contient. Cette expérience, qui n'est pas possible avec ce corps, peut se faire avec l'amidon. Celui-ci, comme l'éther ou le chloroforme, décolore complètement l'eau iodée, même en présence d'iodure de potassium. Il décolore également l' « iodure de glycogène » ou les solutions de dextrine colorées par l'iode.

Tous ces faits sont très favorables à l'idée que ces iodures d'hydrates de carbone ne sont que des solutions d'iode dans ces corps. Mais il ne peut être question ici d'une solution proprement dite,

comme dans le cas de l'eau et d'un sel soluble. En effet, il ne suffit pas de mettre en présence de l'iode et de l'amidon ou du glycogène pour obtenir la coloration. Rien ne se produit dans ce cas, et il est de toute nécessité, pour provoquer la formation de l' « iodure », d'ajouter de l'eau et de l' « iode combiné », lequel semble jouer ici le rôle du mordant dans les phénomènes très peu connus de teinture.

D'après ce que nous venons de dire, on peut considérer ces colorations produites par l'iode comme le fait de la solution, ou plutôt de la fixation du métalloïde par les molécules d'amidon ou de glycogène. C'est donc une sorte d'absorption, ou d'adhésion moléculaire, suivant l'expression de Duclaux. A ces termes, nous préférons celui de *phénomènes d'absorption*, indiqué par Ostwald, qui implique non seulement une sorte d'attraction physique, mais en plus une certaine affinité chimique.

En terminant, nous désirons attirer l'attention sur le fait que ces phénomènes de coloration par l'iode se produisent uniquement sur des corps non dissous, et cette fixation de l'iode peut être aussi considérée comme un cas de *solutions sèches*. Parmi les corps qui se colorent ainsi, ceux qui ont le plus attiré l'attention sont ceux qui donnent des colorations bleues analogues à celle de l'amidon. Parmi ces corps, on peut citer, outre l'amidon, l'isolichénine, quelques mucilages et substances cellulosiques, la narcéine, le sous-acétate de lanthane gélatineux, l'acide cholalique, l'acide thallonique et l'amidon soluble de Dufour. Chez tous, la présence d'eau et d' « iode combiné » semble indispensable, de même que leur état de non-solution. Lorsque la narcéine, l'acide cholalique ou l'amidon soluble de Dufour, par exemple, sont à l'état de véritable solution, la coloration ne se produit pas, ainsi que nous avons pu le vérifier, et elle apparaît dès que l'on provoque la précipitation de la substance.



VI

DOSAGE COLORIMÉTRIQUE RAPIDE DU GLYCOGÈNE.

Le moyen le seul exact de doser le glycogène consiste à le séparer à l'état de pureté et à le peser directement. Mais cette opération, longue et délicate, produit toujours un déficit, assez faible, il est vrai, lorsque l'on a affaire à des tissus animaux, mais qui devient très considérable quand il s'agit de végétaux. La purification du glycogène des Champignons ou des Levures est des plus longues; et, ainsi que nous avons déjà insisté sur ce point, elle n'est possible qu'avec une perte considérable de matière qui, dans certains cas, peut aller jusque 50 °/₀ et plus.

Le dosage polarimétrique que Külz recommande est également peu praticable avec les tissus végétaux, car il exige, comme la pesée, la séparation complète des matières gommeuses ou mucilagineuses, douées aussi d'un pouvoir rotatoire élevé et donnant des sucres réducteurs par l'inversion.

Malgré toutes ses imperfections, c'est donc uniquement au dosage colorimétrique que l'on peut avoir recours dans le cas actuel. L'emploi de la colorimétrie, préconisé à plusieurs reprises, a été combattu maintes fois et surtout par Külz. Ce procédé, en effet, est sujet à de nombreuses causes d'erreur, et nous avons exposé avec trop de détails la grande contingence de l'intensité de coloration de l' « iodure de glycogène » pour qu'il soit nécessaire d'y revenir. Toutefois, il offre de grands avantages, et si l'on ne peut le recommander quand il s'agit de recherches très précises, nous estimons néanmoins qu'il peut rendre des services très signalés lorsque l'on veut se rendre compte approximativement de la richesse d'un tissu. Ses avantages sont essentiellement la rapidité avec laquelle le dosage peut être fait, la très faible quantité de matière qu'il nécessite et la simplicité du traitement préalable.

Voici comment il nous a paru préférable d'opérer : 1 gramme, en moyenne, de poudre la plus fine possible de Champignons bien

séchés est épuisé par l'eau bouillante très légèrement alcaline, à plusieurs reprises. Tous les liquides sont réunis et amenés, par addition d'eau distillée, après neutralisation parfaite, à un volume bien déterminé, qui est en moyenne de 50 à 100 c. c., de façon à obtenir une liqueur dans laquelle le glycogène soit à la concentration d'environ 0,2 à 0,4 °/₀. Si l'on ignore complètement la richesse approximative de la poudre, on la déterminera par un essai préliminaire.

Le liquide, après avoir été amené à un volume exactement mesuré, est filtré, et une petite quantité du filtrat est additionnée de quelques cristaux d'iode. 10 c. c. de liquide sont largement suffisants pour cet essai. On les chauffe au bain-marie jusqu'à apparition de vapeurs d'iode, puis on refroidit rapidement.

Pour déterminer l'intensité de la teinte et, par suite, la richesse en glycogène, au lieu de la rapporter à la coloration de la solution d'iode à 1 °/₀ qui nous a servi d'étalon précédemment, il est préférable d'opérer comparativement avec une solution titrée de glycogène pur (à 0,2 °/₀ environ) de la même espèce que celle en expérience. Cette solution est chauffée au bain-marie, de la même manière que le liquide à essayer, avec quelques cristaux d'iode. Il arrive souvent ici, quand le glycogène est très pur, que la teinte brune ne se produit pas par le refroidissement. Dans ce cas, il suffit d'ajouter une très petite quantité d'iodure de potassium, quelques centigrammes au plus. On compare au colorimètre les intensités de teintes des deux liquides, et de celles-ci il est alors très aisé de déduire la richesse de la poudre en glycogène.

Dans le liquide en expérience, il peut se trouver à côté du glycogène d'autres substances qui fixent de l'iode, comme les albuminoïdes par exemple, et il s'ensuivra que la teinte due à ces corps s'ajoutera à celle produite par le glycogène. Pour éviter cette cause d'erreur, qui est généralement très faible, il suffit de déterminer la coloration du liquide chaud et de la déduire de celle du liquide refroidi, la teinte donnée par ces substances étrangères ne se modifiant guère sous l'action d'une chaleur pas trop élevée, tandis que l' « iodure de glycogène » est décoloré entre 65° et 73°.

Par ce procédé, nous avons déterminé la richesse en glycogène

de notre poudre de Bolet. Elle renfermait vingt parties de cet hydrate de carbone pour cent de poudre sèche. La poudre d'*Amanita* en contenait 14 °/₀. Nous avons également dosé un échantillon de Levure. Il a donné 31 °/₀ de glycogène. Examiné au microscope, cet échantillon contenait cependant beaucoup de cellules peu riches, et par suite nous estimons que la Levure peut mettre en réserve une proportion de glycogène plus forte encore.

Quoi qu'il en soit, ces chiffres suffisent à montrer que le glycogène peut s'accumuler en quantité considérable chez certains Champignons.

Pour vérifier les résultats de cette méthode de dosage, nous avons fait comparativement sur des moules le dosage colorimétrique et le dosage par pesées du glycogène. La concordance a été des plus satisfaisantes. Nous avons obtenu par pesées 12 °/₀ du poids sec, et par la colorimétrie, 12,5 °/₀.

VII

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Nous nous sommes efforcé, au cours de ce travail, d'étudier aussi complètement que possible les propriétés physiques et chimiques présentées par les divers glycogènes que nous avons extraits des Champignons, des Levures et des tissus animaux. Il résulte bien de nos recherches qu'il n'existe aucun caractère différentiel entre les produits d'origine animale et ceux qui proviennent des végétaux. C'est la même espèce chimique que l'on trouve dans les deux règnes, ainsi que l'avait affirmé Errera pour la première fois, en 1882, et nos résultats confirment en tous points sa conclusion.

Sans revenir sur les méthodes d'extraction assez compliquées que nous avons décrites avec beaucoup de détails et qui nous ont

permis d'obtenir des produits d'une grande pureté, nous désirons toutefois nous arrêter un instant sur les résultats fournis par l'examen chimique de ces glycogènes. Dans nos divers essais, tous se comportent d'une manière analogue. Parfois, de très légères différences se constatent dans certains caractères, et nous aurons soin d'y revenir plus loin. Mais auparavant, passons rapidement en revue les propriétés communes à tous ces glycogènes.

Toujours, ce sont des substances ternaires, non azotées, non combinées à des substances minérales quelconques. Tous présentent cette solubilité apparente dans l'eau sur laquelle nous avons insisté à plusieurs reprises. Ces « pseudo-solutions » sont opalescentes et se comportent d'une façon semblable vis-à-vis des divers réactifs. Les mêmes corps précipitent toutes ces solutions, comme l'alcool, l'acide acétique, certains sels neutres ou basiques; et, fait plus important, les réactifs qui sont sans action sur le glycogène animal se conduisent de même en présence du glycogène des végétaux.

Leur composition chimique est identique et répond chez tous à une même formule $6(C^6H^{10}O^5) + H^2O$. Ils sont fortement dextrogyres : leur pouvoir rotatoire est sensiblement le même, en moyenne 189°18′, et les écarts très faibles que nous avons observés ne peuvent être attribués à des différences de composition, mais bien à de légères causes d'erreur qu'on ne saurait éviter.

Lorsque l'on soumet les différents glycogènes à l'action soit des diastases, soit des acides minéraux dilués et de la chaleur, les produits résultant du morcellement des molécules de l'hydrate de carbone sont les mêmes chez tous. La salive donne, comme produit final, probablement de la maltose, tandis que les acides occasionnent un dédoublement en dextrose.

Nous avons, en un chapitre spécial, étudié de très près l'action de l'iode sur chacun de nos glycogènes, et les nombreuses recherches que nous avons faites à ce point de vue montrent l'impossibilité de reconnaître l'origine animale ou végétale du glycogène. Celui de Levure seul présente une différence au point de vue de la coloration et de la température de décoloration par la chaleur,



mais, à part cette particularité, son « iodure » subit les mêmes dissociations que les autres « iodures de glycogène » sous l'influence de l'eau, de l'alcool, de certains sels, etc., et tous se conduisent de même dans des conditions identiques.

Nous avons fait mention plus haut de l'existence de quelques différences légères dans certains caractères de nos glycogènes, et nous croyons nécessaire de les énumérer ici. Le produit sec n'a pas toujours le même aspect, mais nous avons signalé que cet aspect pouvait varier beaucoup chez un même glycogène, suivant la manière d'opérer. Toutefois, le glycogène d'*Amanita* ne s'est pas précipité par l'alcool en grumeaux aussi légers que ceux du Bolet ou du lapin, et sa précipitation se fait beaucoup mieux en forçant la quantité d'alcool.

Deux caractères séparent quelque peu le glycogène de Levure de tous les autres glycogènes : l'opalescence et la teinte produite par l'iode.

La solution du glycogène de Levure a une opalescence beaucoup plus faible ; en outre, la teinte donnée par ce glycogène de Levure en présence d'iodure de potassium iodé est plus foncée, plus violacée que celle de tous les autres, et la disparition de cette teinte sous l'influence de la chaleur a lieu à une température plus élevée de 8°.

Telles sont les quelques différences que nous avons pu constater entre tous nos produits. Elles ne sont pas considérables ; mais si légères qu'elles soient, nous ne pensons pas pouvoir les attribuer à des causes étrangères, et elles nous paraissent inhérentes à la nature même de l'hydrate de carbone.

*
* *

Tous les caractères du glycogène offrent une certaine contingence, et aucun ne lui est absolument propre. Parmi les autres hydrates de carbone, il en est qui présentent l'opalescence de la solution ; d'autres ont la faculté d'être précipités par deux volumes



d'alcool absolu ; d'autres encore se colorent en brun par l'iode et dévient à droite la lumière polarisée aussi fortement que le glycogène.

Avant de conclure à la nature glycogénique d'un corps, il faut donc un ensemble de propriétés qui sont toutes plus ou moins contingentes Dans la série animale, on désigne sous le nom de glycogène des produits qui se colorent par l'iode en brun-rouge ou en brun-violet, dont l'opalescence de la solution peut être très faible, ou dont la précipitation par l'alcool est plus ou moins facile.

Faut-il, comme certains auteurs, négliger complètement ces variations et admettre l'identité absolue du glycogène dans tous les cas, ou bien considérer comme possible la pluralité des glycogènes ?

Boehm et Hoffmann déjà ont supposé l'existence d'un certain nombre de corps qui, quoique présentant entre eux certaines divergences, ne différaient toutefois pas suffisamment pour être regardés comme des produits distincts et devaient être tous compris dans un même groupe, le « groupe du glycogène ». Dans celui-ci, ils placent immédiatement le glycogène du foie, le glycogène des muscles, le xanthoglycogène, l'achrooglycogène et la glycogène-dextrine. A ce groupe peuvent se rattacher le paraglycogène de Bütschli et d'autres encore.

L'idée de ce « groupe du glycogène » a été adoptée par Errera, et nous partageons également cette manière de voir, mais avec cette réserve que tous les corps proposés par Boehm et Hoffmann ne peuvent en faire partie. Il est très probable, en effet, que certains d'entre eux ne sont que des mélanges de produits résultant de modifications du glycogène et pouvant se trouver en proportions variables.

Quelles conditions doivent remplir les hydrates de carbone pour être envisagés comme glycogène ? A notre avis, le caractère fondamental doit être la composition chimique, tandis que les autres propriétés peuvent être plus ou moins bien marquées. C'est ainsi

que la réaction par l'iode manque à l'achrooglycogène; c'est ainsi que d'autres glycogènes donnent avec l'eau des solutions non opalescentes, sans que l'on doive pour cela en faire des espèces chimiques distinctes. Il est très probable que beaucoup de ces corps ne sont que de simples modifications de la molécule du glycogène ordinaire, c'est-à-dire de celui du foie de lapin ou du Bolet. A cet égard, nous avons pu observer un fait qui donne une certaine valeur à cette dernière supposition. Un de nos glycogènes du foie de lapin qui avait servi à diverses expériences donnait, lors de sa préparation, une solution très opalescente. Dans ces derniers temps, voulant en préparer une solution, nous avons obtenu un liquide à peine opalescent, même à la concentration de 1 °/₀. L'extraction de ce produit remontait alors à plus d'un an et demi, et il est à présumer que, sous l'influence des légères traces d'acide qu'il contenait, le glycogène s'était peu à peu modifié. Afin de nous assurer de l'importance des modifications produites, nous avons soumis ce glycogène à divers essais, et nous avons pu constater que, à part l'opalescence, il avait conservé les mêmes caractères qu'au début : même coefficient de coloration par l'iode, même pouvoir rotatoire, même composition centésimale et absence de réduction des liqueurs cuivriques.

Nous considérons encore comme glycogène ce produit qui a perdu toute opalescence sous l'influence d'une très faible quantité d'acide. De plus, nous estimons qu'au début de l'action de la salive, lorsque toute faculté de se colorer par l'iode a disparu, la substance contenue dans le liquide est néanmoins constituée en grande partie par un glycogène.

Pour interpréter ces faits, il est nécessaire de revenir à la composition chimique du glycogène. La formule brute de ce corps est $6(C^6H^{10}O^5) + H^2O$; mais, en parlant plus haut de l'impossibilité de déterminer le poids moléculaire véritable, nous avons indiqué les raisons qui nous portent à considérer cette formule comme trop simple et à admettre que la molécule du glycogène est constituée par la combinaison d'un nombre plus ou moins grand de ces groupements, c'est-à-dire que sa formule doit être plutôt représentée par $n[6(C^6H^{10}O^5) + H^2O]$.

Le vrai caractère glycogénique d'un corps résulterait du groupement [$6(C^6H^{10}O^5 + H^2O]$, et les différences que l'on constate dans les glycogènes proviendraient surtout des variations dans la valeur de *n*. En d'autres termes, les glycogènes différents seraient essentiellement des polymères, sans rejeter pour cela la possibilité de l'existence d'isomères proprement dits, dont le nombre peut être très considérable chez des molécules aussi complexes.

Institut botanique, Université de Bruxelles. Janvier 1895.

LE

GLYCOGÈNE CHEZ LES MYXOMYCÈTES

PAR

NORBERT ENSCH

Docteur en médecine, à Bruxelles [1].

KÜHNE [6] [2], le premier, a signalé la présence du glycogène chez les Myxomycètes. C'est même la première fois qu'il a été question de cet hydrate de carbone dans le domaine réservé ordinairement aux botanistes.

Depuis lors, ce corps a été étudié par BEREND [7], KÜLZ [8], REINKE et RODEWALD [9] chez l'*Aethalium septicum*. C'est surtout depuis les travaux d'ERRERA [2, 3, 4, 5] que la présence du glycogène a été définitivement admise pour le règne végétal. Cet auteur a établi la similitude des glycogènes dans les deux règnes, conclusion que son élève CLAUTRIAU [1] a d'ailleurs consolidée par une étude chimique très approfondie de ces corps chez les Champignons et les Levures. Après avoir recherché le glycogène microchimiquement chez *Aethalium septicum*, ERRERA s'exprime comme suit [2] : « Les plasmodes se colorent en brun orangé par l'iode dans l'iodure de potassium. Cette réaction ne s'étend pas à la

---

[1] Cette note à paru dans les *Miscellanées biologiques dédiées au Professeur Alfred Giard, à l'occasion du XXV[e] anniversaire de la fondation de la Station zoologique de Wimereux*. Paris, 1899, p. 212.

[2] Les chiffres entre crochets renvoient à l'index bibliographique, p. 300.



couche marginale hyaline : elle n'intéresse que le protoplasme granuleux; mais je n'ai pas pu décider avec certitude, si la substance que l'iode brunit forme de très petites gouttelettes, ou si elle imbibe, à l'état de dissolution, la masse protoplasmique. La deuxième alternative me paraît la plus vraisemblable. Ce qui est certain, c'est que le glycogène n'occupe pas ici, comme dans les asques des Ascomycètes, une région distincte et circonscrite ». Nous sommes arrivé à une conclusion analogue en étudiant microchimiquement un certain nombre de Myxomycètes. Nous avons conclu à la présence de ce corps, quand nous obtenions la réaction par l'iode ioduré (I : 1 gr., IK : 3 gr., H_2O : 450 gr.). Il se produit une coloration rouge qui disparaît quand on chauffe et reparaît par le refroidissement. Nous nous sommes assuré de plus si la substance ainsi colorée se dissolvait dans l'eau; à cet effet, nous écrasions le plasmode sous la lamelle et la substance rouge brun se répandait dans le liquide environnant; il restait un squelette protoplasmique coloré en jaune. Pour opérer sur les plasmodes, il était indispensable de pouvoir observer en couche mince. A cet effet, nous les déposions au préalable sur des lamelles recouvertes d'une goutte d'eau. Réagissant à leur sensibilité au contact, les plasmodes s'étalent sur le verre en s'y appliquant très intimement.

Dans ces conditions, on a souvent l'occasion d'observer des tractus protoplasmiques très minces, dans lesquels on peut suivre la réaction. Voici les principaux faits observés :

A. — **La réaction du glycogène a été positive chez toutes les espèces examinées. Elles appartiennent aux genres les plus différents :**

Badhamia utricularis, *Physarum nutans*, *Physarum citrinum*, *Didymium* (=*Chondrioderma*) *difforme*, *Aethalium septicum*, *Stemonitis ferruginea*, *Comatricha obtusata*, *Enerthenema papillatum*, *Reticularia lycoperdon* (=*R. umbrina*), *Trichia varia*, *Arcyria punicea*.

M. le professeur Errera, qui s'était également occupé de cette recherche, avait trouvé du glycogène chez *Fuligo septica* (=*Aetha-*

lium septicum), *Reticularia lycoperdon*, *Didymium difforme*, *Stemonitis fusca*, *Lycogala miniatum*, *Brefeldia maxima*, *Lamproderma violaceum*, *Dictydiæthalium plumbeum* [1].

B. — Le glycogène présente une évolution semblable chez tous les Myxomycètes.

Il fait complètement défaut dans les spores, qui contiennent des gouttelettes huileuses.

Sous l'influence du réactif iodé, les zoospores et les amibes prennent une coloration jaune d'or sans la moindre tendance vers le rouge brun.

Le glycogène apparaît dès que le plasmode est constitué. Peu abondant au début, il augmente de plus en plus à mesure que le plasmode évolue davantage vers le stade sporange.

Au moment où les spores vont se former, la réaction devient d'une grande intensité; la couleur obtenue est foncée, presque noirâtre. Mais quand les spores deviennent mûres, le glycogène disparaît très rapidement.

C. — A propos de la répartition du glycogène.

1° Si l'on dissocie dans l'eau des sporanges non encore mûrs d'*Arcyria*, de *Stemonitis*, de *Comatricha*, on observe régulièrement des aspects très spéciaux.

On voit des hernies protoplasmiques reliées à l'ensemble par un pédicule assez large. La réaction fait défaut dans ce pédicule, tandis qu'elle est extrêmement vive dans les sphères périphériques.

Y a-t-il un rapport entre les sphères périphériques et la formation des spores? C'est une question que nous réservons pour le moment.

---

[1] [Il en est de même pour *Dictyostelium mucoroides* et, d'après Ém. Laurent (*Travaux pratiques de Botanique de l'Institut agricole de Gembloux*, 1901, 2me année, leç. IX), pour *Plasmodiophora Brassicæ*. L. E. Note ajoutée en 1904.]

2° Pour fructifier, les plasmodes forment souvent plusieurs massifs sporifères réunis encore par une bande protoplasmique. Le glycogène ne se rencontre plus alors que dans les futurs sporanges, non dans le pédicule.

D. — **Le glycogène est abondant dans les sclérotes.**

Cette observation a déjà été faite par Errera dans sa Thèse d'agrégation. Dans les sclérotes d'*Aethalium*, on trouve en outre des gouttelettes huileuses solubles dans l'éther et dans le xylol, et se colorant en brun noirâtre par l'acide osmique.

BIBLIOGRAPHIE.

1. — 1895. Clautriau, Étude chimique du glycogène chez les Champignons et les Levures. (*Mémoires in-8° de l'Académie royale de Belgique*, t. LIII, et *Recueil de l'Inst. bot. de Bruxelles*, t. I, ci-dessus, p. 201.)

2. — 1882. Errera, L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. (*Thèse d'agrégation*. Bruxelles, Manceaux; et *Recueil de l'Inst. bot. de Bruxelles*, t. I, ci-dessus, pp. 21 et 22.)

3. — 1882. Errera, Le glycogène chez les Mucorinées. (*Bull. de l'Acad. royale de Belgique*, 3e série, t. IV, no 11; et *Recueil de l'Inst. bot. de Bruxelles*, t. I, ci-dessus, p. 71.)

4. — 1884. Errera, Sur le glycogène chez les Basidiomycètes. (*Mémoires in-8° de l'Acad. roy. de Belgique*, t. XXXVII; et *Recueil de l'Inst. bot. de Bruxelles*, t. I, ci-dessus, p. 77.)

5. — 1887. Errera, Anhäufung und Verbrauch von Glykogen bei Pilzen. (*Berichte bot. Ges.*, 1887, p. LXXIV; et *Recueil de l'Ins. bot. de Bruxelles*, t. I, ci-dessus, p. 133.)

6. — 1868. Kühne, Lehrbuch der physiologischen Chemie, p. 334. Leipzig.

7. — 1880. Krukenberg, Vergleichend physiologische Studien. Abtheilung 2. Heidelberg, p. 55.

8. — 1881. Külz, *Pflüger's Archiv*, XXIV, p. 65.

9. — 1881. Reinke und Rodewald, Studien über das Protoplasma.

LES

RÉSERVES HYDROCARBONÉES

DES

THALLOPHYTES

PAR

G. CLAUTRIAU

Assistant à l'Institut botanique de Bruxelles [1].

Dans aucun autre embranchement du règne animal ou du règne végétal, il n'est possible de rencontrer une aussi grande variété de caractères généraux que chez les Thallophytes. La reproduction y affecte les formes les plus diverses : agamie, isogamie, oogamie et carpogamie à tous les stades. L'aspect et la structure du thalle changent d'une espèce à l'autre; et, au point de vue des dimensions, il suffit de rappeler que l'on trouve parmi eux les êtres les plus microscopiques et les végétaux les plus longs.

Leur constitution chimique est tout aussi variée. Les nombreuses formes de nutrition holophyte et saprophyte s'y présentent à des degrés très divers; et l'existence, chez eux, des différentes

---

[1] Cet article est extrait des *Miscellanées biologiques dédiées au Professeur Alfred Giard à l'occasion du XXVe anniversaire de la fondation de la station zoologique de Wimereux.* Paris, 1899, p. 114. — [Bien qu'il représente seulement un aperçu préliminaire des résultats épars dans la littérature scientifique ainsi que des recherches que l'auteur avait entreprises ou allait entreprendre, il me paraît offrir assez d'intérêt pour justifier une réimpression dans le *Recueil* de l'Institut où le regretté Georges Clautriau passa la plus grande partie de sa trop courte carrière. L. E. Note ajoutée en 1904.]



chromophylles permet de prévoir une dissemblance plus ou moins forte entre les produits de leur assimilation.

Quoique l'étude chimique de ces organismes soit encore très peu avancée, surtout à cause des grandes difficultés qu'elle offre, il existe néanmoins dans la littérature un certain nombre de données qui s'appliquent principalement aux composés ternaires. Nous avons cru qu'il ne serait pas sans intérêt de les réunir très sommairement et de les grouper d'après les principales subdivisions de la classification des Thallophytes, dans lesquelles on les rencontre.

La classification que nous adoptons pour les Thallophytes, dans cette étude, est celle généralement admise actuellement [1] et qui comprend quatre grandes divisions : 1° les Myxomycètes; 2° les Flagellates ; 3° les Algues; 4° les Champignons.

I. — MYXOMYCÈTES.

Par leur mode de vie, les Myxomycètes se rapprochent des Champignons, et les substances ternaires que l'on y rencontre existent également chez ces derniers.

Dans les plasmodes, l'hydrate de carbone de réserve le plus fréquent est le glycogène, dont la présence a été signalée d'abord par Kühne dans l'*Aethalium septicum*. En général, il semble imprégner le protoplasme à l'état de demi-solution et ne paraît que très rarement y former des granulations amorphes [2].

Le glycogène est un hydrate de carbone moins condensé que l'amidon. Sa formule peut être représentée par $n(6C^6H^{10}O^5 + H^2O)$ et sa molécule doit être assez grosse, car elle ne forme pas de véritable solution dans l'eau. Par l'iode, il prend une coloration brun acajou assez semblable à celle que donnent, dans les mêmes conditions, certaines dextrines et érythrodextrines provenant du dédoublement de l'amidon, ce qui a fait assimiler parfois le glyco-

---

[1] Léo Errera, Sommaire du cours d'éléments de Botanique. Bruxelles, 1898.

[2] Voir dans ce même volume l'article de M. le Dr Ensch sur les Myxomycètes (page 297).

gène, véritable substance chimique, à ces amylodextrines dont les caractères changent suivant les auteurs et qui représentent généralement des mélanges variables de diverses dextrines.

Dans les spores des Myxomycètes le glycogène ne se retrouve plus. Il y est toujours remplacé par des matières grasses. Celles-ci, à volume égal, représentent une quantité d'énergie bien plus considérable, et ce fait explique la présence constante des graisses dans les spores très petites.

Les plasmodes contiennent aussi des globules huileux, et l'on y a constaté l'existence d'un sucre non réducteur, probablement de la tréhalose.

II. — FLAGELLATES.

1° **Euflagellates**. — Chez *Euglena viridis*, il existe une substance hydrocarbonée particulière que l'on retrouve dans un grand nombre de Flagellates proprement dits. Elle se présente sous forme de grains plus ou moins arrondis, réfringents, constitués par une série de couches concentriques de densité croissante vers la périphérie et offrant, par ce fait, une assez grande analogie d'aspect avec certains grains d'amidon.

On lui a donné le nom de paramylon.

Celui-ci prend naissance dans le cytoplasme incolore de l'organisme et non dans les plastides vertes. L'iode ne le colore pas, et il se distingue encore de l'amidon ordinaire par une résistance beaucoup plus grande aux divers agents chimiques, ce qui le rapproche aussi de la cellulose. Il ne se gonfle pas dans l'eau chaude et il résiste aux acides organiques et à l'acide chlorhydrique. L'acide azotique et l'acide chromique l'attaquent lentement, tandis que l'acide sulfurique, à une certaine concentration, le dissout.

Le paramylon est facilement liquéfié par la potasse caustique à partir d'une concentration de 6 °/₀ de cet alcali. Il se gonfle alors et se dissout en même temps, avec d'autant plus de rapidité que la solution alcaline est plus concentrée. Les zymases essayées sur ce corps (sucrases et amylases) sont sans action.

Au point de vue physiologique, le paramylon semble bien jouer

dans l'organisme le même rôle que l'amidon. Toutefois, il est assez rare d'obtenir des *Euglena* qui en soient complètement dépourvues. C'est surtout après une période un peu prolongée de grande activité que l'on remarquera la plus forte consommation en paramylon. Elle semble beaucoup moins influencée par un séjour même prolongé dans l'obscurité, parce que l'organisme reste alors probablement immobile.

Le paramylon se trouve également chez les Flagellates incolores. Sa formation n'est donc pas indissolublement liée à la présence d'une chromophylle.

2° **Péridiniens**. — Quoique la matière colorante imprégnant leurs plastides soit le plus souvent jaune ou brune, les Péridiniens présentent cependant une composition chimique qui les rapproche beaucoup des Algues vertes. Leur membrane est cellulosique, et dans leur cytoplasme se rencontrent fréquemment, outre des globules huileux, des granules amylacés présentant tous les caractères de l'amidon proprement dit.

III. — ALGUES.

1° **Schizophytes**. — Quoique les Cyanophycées contiennent le plus souvent une chromophylle bleu verdâtre, on ne constate pas chez elles d'amidon; et il en est de même, à plus forte raison, chez les Schizophytes non chromophylliennes, c'est-à-dire les Schizomycètes ou Bactéries.

L'étude de leurs réserves ternaires est peu avancée. Elle présente, d'ailleurs, de grandes difficultés et exige un matériel d'étude abondant. De plus, les dimensions réduites de ces organismes ne permettent pas de les broyer, de les déchirer facilement, afin de pouvoir en extraire avec certitude ces substances hydrocarbonées qui, à cause de leur nature colloïdale, ne peuvent diffuser au travers des membranes et exigent, pour leur extraction, que les cellules soient ouvertes.

Jusqu'à présent, le contenu des cellules des Cyanophycées n'a, je pense, fait l'objet que de recherches microchimiques.

Naegeli avait déjà signalé l'absence d'amidon chez ces végétaux. Par l'iode, on obtient avec diverses Nostocacées et Oscillariacées des colorations brunes intenses dans le contenu cellulaire, et les réactions microchimiques pourraient y faire supposer la présence d'un corps analogue au glycogène. Mais avant d'admettre l'existence de cet hydrate de carbone chez des plantes pourvues de chromophylles, il est nécessaire d'attendre le résultat d'une étude chimique complète. Celle-ci serait en tous cas intéressante, car elle nous permettrait peut-être de voir si, dans les formes de transition vers les végétaux nettement chlorophylliens, il n'existe pas des substances particulières intermédiaires, entre le glycogène et l'amidon.

On observe, chez beaucoup de Cyanophycées, des granulations arrondies, de diamètre variable, qui s'accumulent parfois en grand nombre dans le protoplasme pariétal, au point de l'envahir complètement. Ces granules, appelés « cyanophycine » par Borzi, sont considérés comme une réserve hydrocarbonée par Zacharias et Nadson; tandis que Bütschli, Schmitz et d'autres sont moins affirmatifs sur leur nature ternaire. Chodat et Manilesco sont plutôt portés à y voir des réserves albuminoïdes. Elles existent également dans les spores.

Quoi qu'il en soit, ces granules jouent un rôle important dans le métabolisme général de la plante, et leur accumulation est toujours accompagnée [1], en outre, d'un dépôt considérable de la substance brunissant par l'iode [2].

L'étude du contenu des Bactéries n'est guère plus avancée. Chez certaines formes incolores, on observe une substance qui, traitée par l'iode, prend une coloration bleue. Ce caractère lui a fait donner, par quelques auteurs, le nom d'amyloïde. Mais ce mot n'implique pas une parenté étroite avec l'amidon et il n'a en vue que l'analogie de teinte produite par l'iode.

---

[1] [Ce point est révoqué en doute par ZACHARIAS, *Ueber die Cyanophyceen.* (JAHRB. HAMBURG. WISS. ANSTALTEN, XXI, 1903, 3. Beiheft, p. 67. Hambourg, 1904.) Note ajoutée en 1904.]

[2] BÜTSCHLI attribue cette réaction au glycogène.

Le *Bacillus amylobacter*, le *Spirillum amyliferum* et plusieurs autres espèces présentent cette réaction à l'intérieur de leurs cellules. D'autres espèces, comme le *Bacterium Pasteurianum*, ont au contraire la membrane, et non le contenu de la cellule, qui se colore en bleu par ce réactif.

Il en résulte, semble-t-il, que dans ces deux cas, la réaction bleue doit être due à des substances différentes. La membrane des Bactéries ne paraît pas, d'après les dernières recherches, être généralement formée de cellulose typique. Elle serait plutôt de nature azotée et se rapprocherait de la chitine, comme la membrane des Champignons. La réaction par l'iode pourrait être interprétée comme prouvant la présence d'une cellulose, mais Kühne a signalé dans le règne animal une substance azotée qui bleuit par l'iode et qu'il a également appelée, pour cette raison, amyloïde. De même, ce nom a été appliqué par d'autres auteurs à des substances ternaires, de nature hydrocarbonée très probablement, qui se trouvent dans certaines graines de Légumineuses, du *Tropæolum majus*, et qui, quoique n'étant pas de l'amidon, présentent la réaction bleue par l'iode [1]. Pour ces motifs, on peut considérer l'amyloïde de la membrane du *B. Pasteurianum* comme très différent de l'amyloïde du contenu cellulaire des Bactéries citées plus haut.

On rencontre chez les Bactéries les formes les plus diverses de saprophytisme, et, par suite, il serait intéressant d'y rechercher le glycogène. Errera a signalé des réactions microchimiques que donnent certaines espèces bactériennes et qui peuvent être attribuées à ce corps.

Aux substances ternaires se rattachent les mucilages que beaucoup de Schizophytes produisent en abondance. Dans certains cas,

[1] Plusieurs auteurs, considérant à tort la réaction bleue par l'iode comme suffisante pour caractériser l'amidon dans les cellules, ont admis, par erreur, l'existence de cet hydrate de carbone dans une série de végétaux où sa présence et son aspect paraissent assez paradoxaux. C'est ainsi qu'on a cru l'avoir caractérisé chez des Champignons, des Lichens, des Bactéries, dans les cellules épidermiques de Phanérogames (amidon soluble de Dufour), etc., etc. Dans aucun de ces cas, il ne s'agit de véritable amidon.

ils paraissent de véritables sécrétions, ne servant pas à la nutrition de l'organisme et formant autour de lui une gaine essentiellement protectrice. Mais en est-il toujours ainsi et tous ces mucilages externes ne sont-ils jamais résorbés, même partiellement? Car, sous le nom de mucilages, nous comprenons des substances très diverses, dont la nature chimique nous est pour ainsi dire inconnue et que l'on doit, au point de vue physiologique, grouper en deux grandes séries : les mucilages de sécrétion, véritables déchets, et les mucilages de réserve, servant de matériaux plastiques dans la nutrition de nombreux organismes.

2° **Algues proprement dites.** — Une partie des organismes de ce groupe est caractérisée par la présence de chlorophylle. Mais à côté de ceux-ci, nous en trouvons un assez grand nombre dont les plastides sont imprégnées en même temps d'une autre matière colorante, jaune ou brune : ce sont les Diatomées et les Phéophycées.

Les Diatomées montrent fréquemment une réserve d'huile, en petites gouttelettes. Certaines espèces sont caractérisées par des chromatophores renfermant un ou plusieurs pyrénoïdes qui pourraient ne pas être dépourvus d'amidon.

Mais cet amidon existe, d'une manière à peu près générale, chez les Algues vertes : Conjugatinées, Protococcinées, Confervinées et Siphoninées, ainsi que chez les Charaphycées. Toutefois, dans quelques-unes de ces formes, les matières huileuses prennent la prédominance et l'on peut même ne plus y trouver d'amidon : ce qui ne veut pas dire que tout hydrate de carbone manque dans ces organismes, car il n'est guère admissible que l'assimilation soit capable de produire directement des graisses.

Quoi qu'il en soit, chez toutes ces Algues pourvues de chlorophylle, l'amidon devient, sans conteste, le véritable hydrate de carbone de réserve.

Ici se pose la question de savoir si tous ces amidons sont identiques. Il semble bien que certaines différences doivent exister entre eux. Déjà, chez les Phanérogames, les principaux types peuvent se reconnaître avec facilité, non seulement par leur aspect

morphologique, mais encore par quelques-unes de leurs propriétés chimiques, comme la résistance plus ou moins grande aux acides, comme la température différente à laquelle ils se gonflent dans l'eau. Il faut donc, au point de vue chimique, regarder beaucoup de ces amidons comme des isomères qui, à cause de la grandeur de la molécule, doivent être très nombreux et, probablement aussi, d'ordres différents. En effet, la formule globale généralement adoptée pour cet hydrate de carbone est n ($C^6H^{10}O^5$), où n doit pouvoir varier beaucoup à partir d'une certaine valeur, et où, peut-être aussi, le radical ($C^6 H^{10} O^5$) affecte des groupements divers.

Il est donc très admissible que des différences existent entre les amidons des nombreuses espèces d'Algues vertes, et il serait très intéressant d'en examiner un certain nombre pour les comparer à ceux déjà étudiés des Phanérogames. Peut-être, d'une telle étude comparative, résulterait-il des notions plus approfondies sur la constitution chimique de cet hydrate de carbone.

Les Phéophycées ou Algues brunes, quoique pourvues de chlorophylle à laquelle est surajoutée une matière colorante brune qui en masque complètement la teinte, ne produisent jamais d'amidon.

Leurs substances ternaires de réserve sont certainement très variées. Chez beaucoup d'espèces, les gouttelettes grasses sont excessivement abondantes et constituent souvent la principale réserve hydrocarbonée de l'organisme.

Plusieurs Laminariacées, *Laminaria saccharina* en particulier, contiennent de la mannite. Dans les cellules vivantes de l'Algue, ce sucre se trouve toujours en solution. Mais si on laisse se dessécher des fragments du thalle, on voit, au microscope, la plupart des cellules se remplir de cristallisations en éventail formées par la mannite.

Les autres réserves ternaires des Phéophycées nous sont moins bien connues. On observe, dans beaucoup d'espèces, des granules, toujours assez petits, plus ou moins réfringents, qui, peut-être, appartiendraient à un hydrate de carbone particulier. Certains de ces granules seraient à rapprocher des grains de « fucosane »

décrits par Hansteen[1]. Mais cet auteur semble avoir confondu sous ce nom deux choses distinctes : ces granulations de nature encore indéterminée et une partie des « physodes » de Crato.

Ces physodes, que l'auteur qui les a décrits considère comme un organe particulier de la cellule, se présentent sous forme de masses hyalines, très réfringentes, à contours arrondis, très abondantes chez certaines espèces. Un bon matériel pour leur étude est l'*Himanthalia lorea* que j'ai examiné à plusieurs reprises au laboratoire de Wimereux. Pour Crato, ces physodes ont un mouvement qui leur est propre et ils se divisent activement comme des plastides ordinaires. Un examen attentif permet de voir que ce mouvement des physodes est passif et dû à des changements dans la position des tractus protoplasmiques. Leur subdivision provient également de la même cause. En faisant arriver de l'eau distillée dans la préparation, les filaments protoplasmiques changent d'aspect, se désorganisent en partie; les physodes perdent leur contour et l'on peut voir tout leur contenu s'étaler contre la membrane de la cellule en perdant la plus grande partie de sa réfringence. Par le chlorure d'or, qui se réduit et colore le contenu des physodes en brun rouge, puis en bleu foncé, on observe qu'il n'y a pas une véritable solution de la substance, ni une diffusion de celle-ci au travers de la membrane.

D'après l'ensemble des réactions, on peut se représenter ces physodes comme une sorte d'agrégation au sens de Lœw, formée par une substance colloïdale, peut-être de nature albuminoïde, renfermant un corps voisin des phénols que Crato suppose être de la phloroglucine. On pourrait considérer cette substance aromatique comme l'homologue des tannins dont la présence est con-

---

[1] [Voir surtout le dernier travail de Hansteen : *Ueber das Fucosan als erstes scheinbares Product der Kohlensäure-Assimilation bei den Fucoïdeen*, Pringsh. Jahrb. 1900, Bd XXXV, p. 611. — Chez *Dictyota*, il se forme comme produit de l'assimilation un corps de nature glycosidique, d'après Hunger, *Ueber das Assimilationsproduct der Dictyotaceen*, Pringsh. Jahrb., 1902, Bd XXXVIII, p. 70.
L. E. Note ajoutée en 1904.]

stante chez presque tous les végétaux à chlorophylle proprement dite.

Si les grains de fucosane de Hansteen sont en partie constitués par ces physodes, il se peut que les autres granulations appartiennent à un hydrate de carbone. Des recherches chimiques sur ces granulations seraient à entreprendre, mais conduites d'une manière plus précise que ne l'a fait Hansteen. Il n'a pas isolé ces grains; et d'après le procédé d'extraction qu'il a employé, la substance obtenue et analysée par lui pouvait tout aussi bien provenir des autres éléments de la cellule (membranes, mucilages, etc.) que de ses grains de fucosane.

Tollens et ses collaborateurs, Bieler et Günther, ont extrait des *Fucus* un sucre cristallisé qu'ils nomment fucose. Il ne préexiste probablement pas dans la plante et doit être un produit de dédoublement des polysaccharides de celle-ci, sous l'influence de l'acide sulfurique employé pour l'extraction de cette fucose.

Les membranes cellulaires du *Fucus* ont pu fournir ce produit de saccharification. Car nous trouvons chez beaucoup de Phéophycées des épaississements considérables des membranes qui présentent des caractères très différents, depuis l'aspect de gelées ou de mucilages peu épais jusqu'à l'apparence de cellulose très condensée. Il semble bien que ces épaississements doivent ici. comme dans beaucoup de graines, jouer le rôle de réserves hydrocarbonées. Leur variété est très grande, non seulement entre les diverses Algues, mais encore entre les diverses cellules d'une même espèce. On peut s'en rendre compte au moyen de la réaction bleue, par l'iode et l'acide sulfurique, qu'ils présentent généralement. Quelquefois, l'iodure de potassium iodé seul colore déjà certaines régions des parois cellulaires; et ces régions colorées augmentent de plus en plus à mesure que l'on fait agir, en même temps que l'iode, des quantités croissantes d'acide sulfurique.

Pour ces observations, j'avais préparé à Wimereux une série de solutions d'acide sulfurique à des degrés de concentration divers, variant entre 1 et 60 °/₀ d'acide, et dans chacune desquelles j'ajoutais une égale quantité de solution iodée. Les coupes étaient plongées dans un excès de ces réactifs sulfuriques iodés, qui

peuvent se conserver un certain temps et qui conviennent très bien pour identifier ou pour différencier les diverses membranes cellulaires des Phéophycées et des Rhodophycées.

Un fait intéressant et qui est très frappant lorsque l'on examine au microscope le contenu cellulaire de diverses Fucacées, c'est la différence que ce contenu présente suivant les espèces. Pendant un de mes séjours au laboratoire de Wimereux, ayant eu à examiner à plusieurs reprises les divers *Fucus*, j'ai constaté que l'on arrivait à distinguer assez facilement, rien qu'à l'aspect microscopique du contenu cellulaire, les trois espèces de *Fucus* que l'on trouve sur les rochers de la côte, les *Fucus serratus*, *platycarpus* et *vesiculosus*.

3° **Rhodophycées**. — Si l'absence d'amidon est constante chez les Algues brunes, par contre, un corps voisin de cette substance se présente très fréquemment chez les Floridées.

On constate, en effet, dans beaucoup d'espèces, l'existence de grains arrondis, réfringents, présentant souvent des couches concentriques très distinctes et qui prennent, par l'iode, une coloration brun rouge ou violette. Examinés à la lumière polarisée, ces grains présentent une croix noire comme les grains d'amidon ordinaire.

Kützing, puis Naegeli, qui les avaient observés, n'avaient pas conclu à leur nature amylacée, et ce fut Van Tieghem qui les considéra, le premier, comme voisins de l'amidon. Plus tard, il admit qu'ils étaient constitués par de l'amylodextrine. Mais nous avons déjà dit plus haut (p. 303) que les caractères des amylodextrines varient beaucoup suivant les auteurs qui s'en sont occupés.

Dans ces conditions, il est préférable, en attendant qu'une étude chimique complète de cette substance ait été faite, de lui conserver le nom « d'amidon des Floridées », et c'est cette dénomination qu'adopte également Bruns dans son étude sur le contenu cellulaire des Algues marines. Il considère ces grains comme de nature amylacée et, à propos de leur coloration différente par l'iode, il mentionne les recherches de A. Meyer sur les divers grains d'amidon que ce réactif colore en rouge.

Depuis longtemps, j'ai l'intention de faire l'étude chimique de

cet amidon des Floridées et, à cet effet, j'ai pu recueillir à Wimereux un matériel abondant et assez favorable. De toutes les Floridées que l'on rencontre sur les côtes du Pas-de-Calais, la plus riche en cet amidon et la plus répandue est le *Polyides rotundus*. J'ai soumis déjà une certaine quantité de spécimens de cette espèce à des recherches préliminaires qui m'ont permis de constater la possibilité de l'extraction du produit non modifié. J'ai pu obtenir une petite quantité d'amidon en grains intacts avec leur forme et leur réaction iodée habituelles, et débarrassés de toute impureté. Diverses circonstances m'ont empêché de continuer ces recherches, que je me propose de reprendre bientôt.

Toutes les Floridées ne contiennent pas ces granules. Quelques espèces en paraissent totalement dépourvues et doivent probablement renfermer un autre hydrate de carbone de réserve. Il ne faut pas perdre de vue que les membranes mucilagineuses sont également très fréquentes chez les Algues rouges, et que l'on peut leur appliquer ce qui a été dit, à ce sujet, à propos des Algues brunes.

Des gouttelettes huileuses existent également chez les Floridées.

Au point de vue physiologique, l'amidon des Floridées se comporte comme celui des Phanérogames. Les quelques expériences que j'ai faites à Wimereux, avec le *Polyides rotundus*, m'ont permis de constater une diminution marquée de la quantité d'amidon dans les individus placés à l'obscurité. Toutefois, je n'ai pu obtenir la disparition complète de cette substance ; par un séjour un peu prolongé dans la cave du laboratoire, les plantes devinrent très malades avant d'avoir pu épuiser leurs réserves. Remises ensuite à la lumière, elles ont continué à dépérir et n'ont pas recommencé à assimiler. Ce fait ne doit pas surprendre, car les conditions d'existence très spéciales de ces Algues n'étaient guère satisfaites dans ces expériences, qui m'ont donc simplement permis de constater la diminution de l'hydrate de carbone à l'obscurité [1].

---

[1] [Presque en même temps que Clautriau, Kolkwitz arrivait, de son côté, au sujet des Floridées, à des conclusions analogues, qu'il formule ainsi : « L'amidon des Floridées ne s'écarte pas notablement de celui des plantes supérieures. — L'amidon emmagasiné y est utilisé à peu près comme chez ces dernières. — Il est

IV. — CHAMPIGNONS.

Dans toute la classe des Champignons où, d'une manière générale, aucune vraie chromophylle n'existe jamais et où le mode de nutrition est partout uniquement saprophyte, nous trouvons constamment les mêmes matériaux nutritifs de réserve ; et il n'est plus possible, comme avec les Algues, d'y caractériser certains groupes par la présence d'un hydrate de carbone particulier.

Une grande analogie chimique du contenu cellulaire se manifeste entre les espèces les plus éloignées, et, à ce point de vue, nous pouvons faire un certain rapprochement entre les Champignons et les Phanérogames, dont les réserves hydrocarbonées sont, d'une manière presque générale, constituées essentiellement par de l'amidon.

Ici, le glycogène, dont l'identité avec le glycogène animal fut démontrée pour la première fois par Errera, tient la place de l'amidon [1] et joue le même rôle que lui. Plus ou moins abondant chez les différentes espèces, il ne manque que rarement. Sa proportion est souvent considérable. J'ai dosé 14 % de glycogène dans l'*Amanita muscaria* ; 20 % dans le *Boletus edulis* et 31 % dans les *Saccharomyces*. Ces chiffres déjà élevés sont tous trop faibles, car il est excessivement difficile d'arriver à extraire la totalité du glycogène de ces tissus végétaux.

De même que pour l'amidon, se pose la question de savoir s'il existe plusieurs glycogènes. Dans les deux cas, la réponse est affirmative. J'ai comparé entre eux les glycogènes de Chien, de Lapin,

---

encore douteux qu'il y ait (dans les Floridées) d'autres hydrates de carbone emmagasinés que l'amidon.. » (R. Kolkwitz, *Beitr. z. Biol. d. Florideen*, Wiss. Meeresuntersuchungen, Neue Folge, Bd IV, Abt. Helgoland, Heft 1, 1900, p. 61 ; — voir aussi Idem, *Ber. bot. Ges.*, Generalversammlungsheft, 1899, p. (247). L. E. Note ajoutée en 1904.]

[1] Nous avons déjà dit que la réaction bleue obtenue par l'iode chez certains Champignons n'était pas due à de l'amidon (p. 306). Elle semble se rapprocher de celle de l'isolichénine.



de Moules, du *Boletus*, de l'*Amanita*, du *Phallus* et des *Saccharomyces :* ils présentent de légères différences dans l'opalescence de leurs pseudo-solutions, et les teintes qu'ils donnent en présence de quantités équivalentes d'iode ne sont pas identiques.

Le glycogène, dont la formule a été indiquée antérieurement, représente une entité chimique et ne doit pas être confondu avec les amylodextrines.

Les divers autres hydrates de carbone des Champignons sont mieux connus que ceux des autres Thallophytes, ce qui tient surtout à ce que les matériaux sont plus faciles à réunir en quantité. Bourquelot, dans une série d'intéressants travaux, a étudié un grand nombre d'espèces et a montré l'existence fréquente de glycose, de lévulose, de tréhalose (ou mycose de Müntz) et de mannite. Du *Lactarius volemus* il a extrait un sucre particulier qu'il a appelé volémite. Il ne s'est pas occupé du glycogène; mais il a examiné les variations de quantité de ces différents sucres solubles suivant l'âge du Champignon, et il a constaté que les formes jeunes étaient surtout riches en tréhalose, qui se transformait ultérieurement, et parfois très vite, en mannite, laquelle disparaissait à son tour, produisant des sucres réducteurs. Les anesthésiques empêchent cette transformation de tréhalose en mannite.

Le *Phallus impudicus* est très favorable à l'étude des variations dans la teneur en matières hydrocarbonées aux différents états de développement. J'ai eu l'occasion, il y a plusieurs années, d'examiner quelques échantillons de pédicelles recueillis avant et après l'allongement et conservés de suite dans l'alcool fort. Voici le résultat de l'analyse que j'ai faite de ces matériaux, et qui montre l'énorme diminution du glycogène ainsi que sa transformation en tréhalose, puis en mannite, au cours de cet allongement.

	Avant l'allongement.	Après l'allongement.
Glycogène	20 %	1.5 %
Matières grasses	3.38 %	2.37 %
Tréhalose	20.72 %	30.89 %
Mannite	1.07 %	5.07 %

Ainsi que le montre déjà ce tableau, les matières grasses existent aussi chez les Champignons comme dans toutes les cellules vivantes.

Il nous faut aussi mentionner les mucilages très fréquents et parfois très abondants. A ce sujet, on ne peut que répéter ce qui a été dit plus haut en parlant de ces substances chez les diverses Algues (pp. 306, 310 et 312).

Il est inutile d'insister, en terminant ce rapide aperçu, sur la variété des réserves hydrocarbonées contenues dans les Thallophytes, et de rappeler l'intérêt général que présenterait leur étude approfondie.

Nous voyons que la présence de chlorophylle vraie est nécessaire à la formation d'amidon typique. Lorsqu'une chromophylle vient se surajouter, il en résulte, d'habitude, une forme nouvelle d'hydrate de carbone; et si toute plastide colorée disparaît, le glycogène remplace généralement l'amidon et joue le même rôle physiologique que lui.

STÄRKEBILDUNG AUS GLYCERIN, von Em. Laurent (*Botanische Zeitung*, XLIV, 1886, col. 151).

[Cette courte note fait connaître la découverte, par Laurent, de la formation d'amidon, au moyen de la glycérine, dans les tiges étiolées de la Pomme de terre. L'auteur y revient en détail dans le travail suivant.]

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LA

FORMATION D'AMIDON DANS LES PLANTES

AUX DÉPENS DE SOLUTIONS ORGANIQUES [1]

PAR

ÉMILE LAURENT

Professeur de botanique à l'École d'horticulture de l'État, à Vilvorde [2]

C'est M. Böhm qui, le premier, a attiré l'attention sur la formation d'amidon dans les plantes aux dépens de matières sucrées puisées dans le milieu extérieur [3]. Ce savant opérait avec de jeunes haricots qui avaient d'abord été maintenus à l'obscurité pour leur

---

[1] Ce mémoire a paru en 1888 dans le *Bull. de la Soc. roy. de bot. de Belgique*, t. XXVI (année 1887), première partie, p. 243.

[2] Le présent travail [couronné par la Société royale de botanique de Belgique dans sa séance du 14 août 1887] a été entrepris en réponse à la question suivante, mise au concours, par M. Léo Errera, à l'occasion du 25e anniversaire de cette société (Assemblée générale du 6 décembre 1885) :

Les expériences de Böhm (*Berichte der chemisch. Gesellsch.*, 1877, p. 1804, et *Bot. Zeitung*, 1883) *tendent à prouver que les plantes peuvent former de l'amidon au moyen d'une solution sucrée (saccharose ou glycose) absorbée, soit par leurs racines, soit par la surface de leurs feuilles.*

On demande de répéter ces expériences en discutant soigneusement toutes les causes d'erreur, et de les étendre en s'assurant si l'amidon se produit quand on fournit à la plante d'autres matières sucrées : maltose, lactose, mannite, etc...; — ou même des substances plus simples : érythrite, glycérine, acide tartrique, acide malique, acide succinique, acide lactique, acide formique, aldéhyde formique, etc.; oxyde d'éthylène; acétones, etc..

[3] *Berichte der chemisch. Gesellsch.*, 1877, p. 1804, et *Bot. Zeitung*, 1883, pp. 33 et 49.



faire perdre leur amidon, ou bien avec des fragments de tiges et des pétales. Couchés sur des solutions de glycose ou de saccharose, ces organes produisaient de l'amidon, en quantité surtout abondante avec des solutions assez concentrées (20 °/₀).

En décembre 1885, la question de la formation d'amidon au moyen de matières organiques offertes aux plantes fut mise au concours par M. Léo Errera à la Société royale de botanique de Belgique [1].

M. A. Meyer a publié, au commencement de l'année suivante, le résultat d'expériences variées poursuivies sur le même sujet [2]. Il employait des feuilles, dépourvues d'amidon par un séjour suffisant à l'obscurité, déposées ensuite à la surface de solutions aqueuses des corps à étudier. Pour donner aux essais une certitude suffisante relativement à la disparition de l'amidon, chaque feuille utilisée était divisée longitudinalement en deux moitiés, dont l'une servait à l'épreuve et l'autre jouait le rôle de témoin. Les deux moitiés étaient traitées par le procédé de Sachs pour la recherche de l'amidon (décoloration par l'alcool, puis immersion dans un bain iodé).

Les fragments de feuilles étaient déposés, la face supérieure en dessous, sur la solution nourricière, renfermée dans des cristallisoirs recouverts de disques de verre pour empêcher l'introduction des germes de l'air. Ces cristallisoirs étaient conservés dans un endroit obscur, et l'examen des feuilles se faisait au bout de dix à quinze jours.

M. Meyer a obtenu des résultats positifs avec les corps suivants :

Glycose, lévulose, galactose, maltose, mannite (avec les Oléacées seulement), dulcite (avec le Fusain), glycérine (avec *Cacalia suaveolens, Dahlia variabilis, Beta vulgaris*). Il ne s'est pas formé d'amidon avec l'inosite, la mélitose et l'érythrite.

Les résultats fournis par les essais nombreux et très variés de M. Meyer montrent que l'action d'une même substance diffère avec

[1] La question fut déjà présentée à la séance de mai 1885.

[2] *Bot. Zeitung*, 1886, pp. 81, 105, 129 et 145.

la nature spécifique des plantes employées. Il y a d'autant plus de chance de réussir que cette substance se rencontre à l'état naturel dans les végétaux mis en expérience.

En même temps que M. Meyer publiait son travail dans le *Botanische Zeitung,* je communiquais à cette revue les résultats que j'avais obtenus pendant l'année 1885 dans le même ordre d'idées [1]. J'opérais sur des tiges de Pomme de terre étiolées, qui avaient épuisé leurs réserves au point que des coupes faites à différentes hauteurs ne présentaient plus de trace d'amidon. Les tiges étaient ensuite plongées par leur base dans la solution nourricière et abandonnées dans un endroit obscur. Dès 1885, j'avais obtenu la formation d'amidon avec la saccharose, la dextrose et la glycérine. Avec la saccharose, il y avait production à l'aisselle des feuilles de tubercules gorgés d'amidon de 1 centimètre de long sur 5 millimètres de diamètre. Les acides acétique, oxalique, tartrique, la dextrine et le tannin en solutions à 5 °/₀ n'avaient donné que des résultats négatifs.

Des expériences de ce genre ont été continuées pendant toute l'année 1886 et le printemps de 1887. Sauf pour quelques-unes, elles ont toujours porté sur la Pomme de terre. La préférence presque exclusive accordée à cette espèce parmi les Phanérogames n'est pas sans motifs. D'abord c'est l'une des plantes qui produisent le plus facilement de l'amidon, et ensuite il est possible de se renseigner avec une grande exactitude sur la formation, dans les tiges, des réserves amylacées.

Tous ces essais font partie d'un ensemble de recherches sur la nutrition organique des végétaux, non seulement dans les plantes supérieures, mais aussi chez divers Champignons et les Bactéries.

J'ai toujours distingué soigneusement le cas où la plante fabrique des réserves d'hydrates de carbone (amidon, glycogène, corps bleus par l'iode dans les Bactéries), et celui où les organismes observés s'accroissent sans former de réserves hydrocarbonées visibles avec l'iode. A ce point de vue, l'emploi des tiges de pomme de terre est avantageux : je marquais un point à l'encre à 5 centimètres du

[1] *Bot. Zeit.*, 1886, p. 151.

sommet, et il suffisait de faire plus tard de nouvelles mesures pour s'assurer de la croissance.

Dans le présent travail, je répondrai à la question telle que M. Errera l'a posée à la Société royale de botanique de Belgique. Les faits que j'ai observés sur l'accroissement sans réserves hydrocarbonées, rares chez la Pomme de terre, et sur la nutrition organique des êtres privés de chlorophylle seront exposés dans un prochain travail.

Au fur et à mesure que mes essais sont devenus plus nombreux, j'ai perfectionné la méthode suivie dès le début, afin d'écarter toutes les causes d'erreur. C'est pour prévenir des accidents inévitables aux personnes qui répéteraient ces essais, que je donnerai quelques détails sur la préparation des tiges étiolées à mettre en expérience.

Des tubercules de moyenne grosseur étaient plantés dans des terrines employées par les jardiniers pour faire les semis dans les serres, et je les mettais aussitôt à l'obscurité. Lorsque les pousses avaient atteint 25 centimètres environ de hauteur, elles étaient coupées à quelques centimètres de la surface du sol; la culture était conservée pour obtenir une deuxième et parfois une troisième récolte. Le choix des tiges n'est pas sans importance : il faut rejeter celles qui sont de faible diamètre, car, plongées dans les solutions organiques, elles ne tardent pas à devenir flasques et à mourir. On doit aussi sacrifier les pousses qui ont subi un arrêt de croissance, parce qu'elles renferment très souvent une assez grande quantité d'amidon.

Il importe d'éviter avec le plus grand soin l'emploi de rameaux contenant des dépôts amylacés. De plus, il y a généralement dans les tiges des matières sucrées qui peuvent nuire à l'exactitude des résultats. L'examen microscopique fait çà et là sur des tiges récoltées dans les mêmes conditions ne renseigne pas avec assez de certitude sur la présence de l'amidon. Je m'y bornais dans les premiers temps de mes recherches, mais par la suite j'ai été amené à compliquer ce procédé de contrôle. Les pousses aussitôt coupées sont plongées dans de l'eau jusqu'au moment où les extrémités cessent de croître. Il se passe ainsi trois ou quatre semaines. A ce moment, il est rare que l'on trouve encore des grains d'amidon

dans la gaine amylacée et au voisinage du point végétatif, endroits où cet hydrate de carbone persiste très longtemps. Mais il y a encore presque toujours dans les tubes criblés quelques grains très petits (1 μ), accumulés au voisinage des parois transverses. Pour éviter cette cause d'erreur, j'ai été obligé, dans les essais très délicats, comme avec la peptone, de laisser les tiges mourir progressivement de bas en haut par suite d'inanition prolongée. J'obtenais ainsi les parties supérieures tout à fait exemptes de substance amylacée.

Je me suis souvent demandé si les matières sucrées qui existent dans les tiges coupées, et dont il n'est pas possible d'affirmer la disparition, ne pourraient pas donner lieu à la formation de grains d'amidon. Je me figurais que, par suite de la plasmolyse produite par certaines solutions, la concentration du suc cellulaire pouvait atteindre le degré où il y a précipitation d'amidon [1]. Cette hypothèse m'avait été suggérée par des résultats extraordinaires dont, de prime abord, je ne devinais pas la signification. J'ai constaté plus tard qu'ils étaient dus à un défaut de précautions préliminaires.

Quoi qu'il en soit, j'ai préféré écarter tout doute à ce sujet. A plusieurs reprises, j'ai plongé des rameaux récemment coupés dans des solutions de chlorure de sodium et de nitrate de potassium à 5 °/₀ pour les plasmolyser. Jamais je n'ai observé de grains d'amidon là où il n'y en avait pas auparavant.

Les solutions nourricières étaient introduites soit dans des matras coniques à large ouverture, soit dans des flacons de 15 ou 30 centimètres cubes à large goulot. Dans l'un et l'autre cas, je stérilisais par l'ébullition ou le séjour dans la vapeur d'eau à 100°, après avoir fermé chaque bocal au moyen d'un tampon d'ouate. Celui-ci était plus tard enroulé autour des tiges en expérience.

Dans mes premiers essais, je m'efforçais avec beaucoup de peine

---

[1] [Cette supposition a été pleinement confirmée un peu plus tard par Böhm, *Stärkebildung in den Blättern von Sedum spectabile*, Bot. Centralbl., 1889.
L. E. Note ajoutée en 1904.]

à éviter l'apparition des moisissures et des bactéries. Par la suite, je suis revenu de cette prévention, d'abord parce qu'il est presque impossible de se mettre à l'abri des germes, surtout de ceux qui se trouvent toujours sur les pousses de Pomme de terre. Au surplus, ces végétations étrangères ne nuisent guère à la rigueur des résultats. Cependant, lorsque j'avais des doutes à ce sujet, j'ai fait des essais avec tous les soins compatibles avec la vie des tiges de Pomme de terre, et j'en préparais un assez grand nombre afin d'en conserver au moins quelques-unes à l'état de pureté.

Dans le but de diminuer les chances d'infection, j'avais eu recours aux solutions légèrement camphrées. Elles ont toujours été plus nuisibles aux tiges étiolées qu'aux organismes dont elles devaient contrarier le développement : les tiges noircissaient beaucoup plus rapidement dans les solutions camphrées que dans les solutions non camphrées.

Au début de ces recherches, j'opérais surtout avec les sucres, et j'avais vu, comme M. Böhm et M. Meyer, que les solutions assez concentrées sont les plus favorables. A la suite de cette remarque, j'ai fait usage de solutions acides, salines et autres aussi concentrées; puis j'en ai diminué graduellement la concentration jusqu'aux solutions très étendues toutes les fois que j'avais des résultats négatifs.

Ces solutions très concentrées semblent *a priori* devoir être rejetées à cause de leur action sur les organes végétaux et surtout de leur pouvoir osmotique. Cela n'est toutefois pas absolument certain, et il se pourrait que de telles solutions pussent avoir une influence utile avant de déterminer la plasmolyse.

J'avais toujours, à côté des tiges soumises à ces expériences, des tiges témoins réunissant les mêmes conditions, sauf qu'elles plongeaient dans de l'eau distillée. Ces témoins mettent ordinairement un mois avant de mourir d'inanition. J'ai constaté que bien souvent ils survivent aux tiges plongées dans les solutions utilisées pour la formation d'amidon. C'est que les moisissures et les bactéries, lorsqu'elles envahissent les solutions nourricières, finissent par attaquer les tiges voisines, beaucoup plus tôt qu'elles ne le font pour celles plongées dans l'eau. Il semble que le pouvoir

parasitique de ces microbes soit en quelque sorte exalté par la vie saprophyte au contact des solutions organiques, comme M. de Bary l'a montré pour le *Peziza Sclerotiorum*. Cette observation n'est pas sans importance en microbiologie et j'y reviendrai dans de prochains travaux.

Aux solutions simplement aqueuses, j'ai plus d'une fois substitué des solutions faites avec le mélange salin de Sachs pour la culture des plantes dans l'eau :

Eau	1000
Nitrate de potassium	1
Sulfate de magnésium	0.5
» de calcium	0.5
Phosphate tricalcique	0.5
Chlorure de sodium	0.5

Il ne me paraît pas qu'il y ait eu de différence entre les résultats obtenus avec ces deux catégories de solutions.

Des essais comparatifs faits avec la saccharose dissoute dans l'eau et dans le mélange salin de Sachs n'ont présenté aucune différence bien constante pour la richesse en amidon et pour la formation de petits tubercules.

La recherche de l'amidon s'est toujours faite au moyen de coupes transversales assez épaisses. Toutes les fois que le résultat n'était pas assez concluant, j'examinais aussi des coupes longitudinales.

Lorsqu'on emploie des solutions favorables, la quantité d'amidon formée dans l'écorce et dans la moelle est déjà très grande dès le quatrième jour qui suit l'immersion, à la température de 15° à 20°. Les grains étaient surtout nombreux au voisinage des faisceaux fibro-vasculaires. En règle générale, l'accumulation d'amidon était toujours plus grande dans l'écorce que dans la moelle. C'est avec la saccharose que j'ai observé les grains les plus volumineux : ils avaient jusqu'a 24 et 30 μ de grand diamètre.

Le nombre des corps dont j'ai étudié le pouvoir amylogène chez la Pomme de terre dépasse la centaine. La liste que j'ai dressée comprend le plus grand nombre des corps organiques solubles dans l'eau qui se trouvent généralement dans le commerce. A côté

de l'indication des solutions employées, j'ai placé la formule chimique afin de faciliter les déductions théoriques que l'on peut tirer de cet ensemble de recherches.

Les solutions qui ont donné des résultats positifs sont imprimées en caractères gras; toutes les autres solutions n'ont donné que des résultats négatifs.

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.	CONCENTRATION des SOLUTIONS.
Alcool méthylique . . .	CH^4O.	10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2 %.
— éthylique	C^2H^6O.	10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2 %.
— propylique . . .	C^3H^8O.	10, 5, 2, 1 %.
Sulfoéthylate de potassium.	$SO^4C^2H^5K$.	5, 2, 1 %.
Sulfobutylate de potassium.	$SO^4C^3H^7K$.	5, 2, 1 %.
Éther éthylique	$C^4H^{10}O$.	5, 2, 1 %.
Méthylamine	$AzH^2(CH^3)$.	5, 2, 1 %.
Propylamine	$Az^2H^2(C^3H^7)$.	5, 2, 1 %.
Méthylal (diméthylate de méthylène)	$CH^2 < {OCH^3 \atop OCH^3}$.	20, 10, 5, 2.5, 1. 0.5 %.
Aldéhyde acétique. . . .	C^2HO^4.	10, 5, 2.5, 1 %.
Paraldéhyde	$C^6H^{12}O^3$.	10, 5, 2, 1 %.
Acide formique	CH^2O^2.	5, 2.5, 1, 0.5 %.
Formiate d'ammonium . .	$CHAzH^4O^2$.	10, 5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1 %.
— de potassium . .	$CHKO^2$.	10, 5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1 %.
— de sodium . . .	$CHNaO^2$.	10, 5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1 %
— de calcium . . .	$(CHO^2)^2Ca$.	10, 5, 2, 1, 0.5 %.
Acide acétique.	$C^2H^4O^2$.	10, 5, 2, 1, 0.5 %.
Acétate d'ammonium . .	$C^2H^3AzH^4O^2$.	10, 5, 2, 1, 0.5 %.
— de potassium. . .	$C^2H^3KO^2$	10, 5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1 %.
Acide propionique . . .	$C^3H^6O^2$.	10, 5, 2, 1 %.
— butyrique	$C^4H^8O^2$.	10, 5. 2, 1 %.

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.	CONCENTRATION des SOLUTIONS.
Butyrate d'ammonium . .	$C^4H^7AzH^4O^2$.	10, 5, 2, 1 °/o.
— de sodium . . .	$C^4H^7NaO^2$.	5, 2, 1 °/o.
— de calcium . . .	$(C^4H^7O^2)^2Ca$.	5, 2, 1 °/o.
Acide valérianique . . .	$C^5H^{10}O^2$.	10, 5, 2, 1 °/o.
Valérianate d'ammonium. .	$C^5H^9AzH^4O^2$.	10, 5, 2, 1 °/o.
Acétone ordinaire. . . .	C^3H^6O.	20, 10, 5, 2, 1 °/o.
Formamide.	$AzH^2(CHO)$.	1, 0.75, 0.50, 0.25 °/o.
Acétamide	$AzH^2(C^2H^3O)$.	10, 5, 2, 5, 1 °/o.
Acétal	$\frac{C^2H^4}{2C^2H^5} > O^2$.	5, 2, 1 °/o.
Glycol éthylénique . . .	$C^2H^6O^2$.	10, 5, 2, 1 °/o.
Acide lactique	$C^3H^6O^3$.	10, 5, 2, 5, 1 °/o.
Lactate d'ammonium. . .	$C^3H^5AzH^4O^3$.	10, 5, 2, 1 °/o.
— de sodium. . . .	$C^3H^5NaO^3$.	10, 5, 2, 1 °/o
— de calcium . . .	$(C^3H^5O^3)^2Ca$.	à saturation, 5, 2, 1 °/o.
Glycocolle	$C^2H^3(AzH^2)O^2$.	5, 2, 1 °/o.
Méthylglycocolle	$C^2H^2CH^3(AzH^2)O^2$.	2, 1 °/o.
Leucine	$C^6H^{11}(AzH^2)O^2$.	2, 1 °/o.
Acide oxalique.	$C^2H^2O^4$.	5, 2.5, 1, 0.5 °/o.
Oxalate d'ammonium. . .	$C^2O^4(AzH^4)^2$.	10, 5, 2, 1 °/o.
— de potassium. . .	$C^2O^4K^2$.	10, 5, 2, 1 °/o.
Acide malonique	$C^3H^4O^4$.	10, 5, 2, 1 °/o.
— succinique	$C^4H^6O^4$.	10, 5, 2, 1 °/o.
Succinate d'ammonium . .	$C^4H^4O^4(AzH^4)$.	10, 5, 2, 1 °/o.
Urée	$CO < \frac{AzH^2}{AzH^2}$.	10, 5, 2, 1 °/o.
Glycérine	$C^3H^8O^3$.	10, 5 °/o.
Stéarate de sodium . . .	$C^{18}H^{35}NaO^2$.	5 °/o.
Oléate de sodium	$C^{18}H^{33}NaO^2$.	5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25 °/o.
Huile d'olive		pure.
— de citron		pure.
Acide glycérique	$C^3H^6O^4$.	5, 2, 1 °/o.
— malique.	$C^4H^6O^5$.	10, 5, 2, 1 °/o.

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.	CONCENTRATION des SOLUTIONS.
Asparagine	$C^4H^8Az^2O^3$.	5, 2, 1 %.
Érythrite	$C^4H^{10}O^4$.	10, 5, 2 %.
Acide tartrique (droit) . .	$C^4H^6O^6$.	10, 5, 2, 1, 0.5 %.
Tartrate acide de potassium.	$C^4H^4O^6KH$.	à saturation.
— neutre de potassium	$C^4H^4O^6K^2$.	10, 5, 2, 1 %.
— d'ammonium . .	$C^4H^4O^6(AzH^4)^2$.	5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1 %.
— neutre de calcium.	CH^4O^6Ca.	à saturation.
— — de sodium .	$C^4H^4O^6Na^2$.	10, 5, 2, 1 %.
Acide citrique	$C^6H^8O^7$.	10, 5, 2, 1 %.
Citrate d'ammonium . . .	$C^6H^5O^7(AzH^4)^3$.	5, 2, 1 %.
— de potassium . . .	$C^6H^5O^7K^3$.	10, 5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1 %.
— de sodium. . . .	$C^6H^5O^7Na^3$.	5, 2, 1 %.
Mannite	$C^6H^{14}O^6$.	20, 10, 5, 2.5 %.
Dulcite	»	à saturation.
Acide mucique.	$C^6H^{10}O^8$.	»
Saccharate de calcium . .	$C^6H^8O^8Ca$.	»
Quercite.	$C^6H^{12}O^5$.	10, 5 %.
Dextrose	$C^6H^{12}O^6$.	25, 20, **15, 10, 5, 2.5** %.
Lévulose	»	25, 20, **15, 10, 5, 2.5** %.
Galactose	»	25, 20, 15, **10, 5**, 2.5 %.
Inosite	»	4, 2 %.
Saccharose	$C^{12}H^{22}O^{11}$.	**40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 2**, 1 %.
Lactose	»	**25, 20, 15, 10, 5**, 2, 1 %.
Maltose	»	**10, 5** %.
Dextrine.	$(C^6H^{10}O^5)^n$.	10, 5, 2, 1 %.
Inuline	»	à saturation.
Lichénine	»	»
Glycogène	»	1 %.
Alcool allylique	C^3H^5OH.	2, 1 %.
Acide fumarique	$C^4H^4O^4$.	2, 1 %.

CORPS EMPLOYÉS.	FORMULE CHIMIQUE.	CONCENTRATION des SOLUTIONS.
Hydroquinone.	$C^6H^4(OH)^2{}_{1.4}$.	2, 1 °/o.
Quinone.	$C^8H^4O^2$.	5, 2, 1, 0.5 °/o.
Phloroglucine	$C^6H^6O^3$.	2, 1 °/o.
Vanilline	$C^6H^3 \left\langle \begin{matrix} OH. \\ OCH^3. \\ COH. \end{matrix} \right.$	à saturation.
Benzoate d'ammonium . .	$C^7H^5O^2AzH^4$.	5, 2, 1 °/o.
— de sodium . . .	$C^7H^5O^2Na$.	5, 2, 1 °/o.
Salicylate de sodium . . .	$C^7H^4OHCOONa$.	5, 2, 1 °/o.
— d'ammonium . .	$C^7H^4OHCOOAzH^4$.	5, 2, 1 °/o.
Gallate d'ammonium . . .	$C^7H^5O^5AzH^4$.	2, 1, 0.5 °/o.
Acide digallique (tannin) .	$C^{14}H^{10}O^9$.	5, 2, 1, 0.5 °/o.
Tannate d'ammonium . .	$C^{14}H^9O^9AzH^4$.	5, 2, 1, 0.5 °/o.
— de sodium . . .	$C^{14}H^9O^9Na$.	5, 2, 1, 0.5 °/o.
Amygdaline.	$C^{20}H^{27}AzO^{11}$.	5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1 °/o.
Arbutine	$C^{12}H^{16}O^7$.	1, 0.5, 0.2 °/o.
Salicine	$C^{13}H^{18}O^7$.	2, 1, 0.5, 0.2, 0.1 °/o.
Coniférine	$C^{16}H^{22}O^8$.	à saturation.
Esculine.	$C^{15}H^{16}O^9$.	»
Phloridzine.	$C^{21}H^{24}O^{10}$.	»
Pyridine.	C^5H^5Az.	5, 2, 1 °/o.
Acétate de morphine. . .	$C^{17}H^{19}AzO^3,C^2H^4O^2$.	2, 1, 0.5, 0.2, 0.1 °/o.
Chlorhydrate d'aconitine. .	$C^{33}H^{43}AzO^{12},HCl$.	2, 1, 0.5, 0.2 °/o.
Codéine.	$C^{18}H^{21}AzO^3,HCl$.	1, 0.5, 0.2 °/o.
Chlorhydrate de narcéine .	$C^{23}H^{29}AzO^9,HCl$.	2, 1, 0.5, 0.2 °/o.
— de strychnine.	$C^{21}H^{22}Az^2O^2,HCl$.	1, 0.5, 0.2 °/o.
— de brucine. .	$C^{23}H^{26}Az^2O^4,HCl$.	1, 0.5, 0.2 °/o.
Caféine	$C^8H^{10}Az^4O^2$.	1, 0.5, 0.2 °/o.
Sulfate de quinine . . .	$(C^{20}H^{24}Az^2O^2)^2,SO^4H^2$.	à saturation.
— d'atropine. . . .	$(C^{17}H^{23}AzO^3)^2,SO^4H^2$.	2, 1, 0.5, 0.2 °/o.
Chlorhydrate de solanine .	$C^{42}H^{75}AzO^{15},HCl$.	1, 0.5, 0.2, 0.1 °/o.
Colchicine	$C^{17}H^{19}AzO^5$.	1, 0.5, 0.2 °/o.
Peptone.		5, 2, 1, 0. 5 °/o.

RÉSULTATS OBTENUS.

Alcools. — Tous les alcools monoatomiques employés ont donné des résultats négatifs.

Alcool méthylique,
» éthylique,
» propylique,
» allylique.

Ils durcissent rapidement les tissus, à l'exception de l'alcool propylique, qui les a ramollis.

Le glycol n'a aucune action nuisible sur les cellules vivantes, mais il n'est utilisé ni pour la formation d'amidon, ni pour la croissance [1].

Il en est tout autrement de la glycérine, qui en solution à 5 et surtout à 10 °/₀ détermine l'accumulation de nombreux granules d'amidon. Malgré le grand nombre de mes essais, je n'ai jamais obtenu la formation de tubercules aux dépens de cet alcool triatomique.

L'érythrite à 10, 5, 2, 1 °/₀ n'a donné aucun résultat positif; les tiges deviennent même flasques. L'absence presque complète de

---

[1] [TH. BOKORNY (*Ueber Stärkebildung aus verschiedenen Stoffen*, BER. DER DEUTSCH. BOT. GES., 1888, Bd VI, p. 119) a constaté ultérieurement la formation d'amidon au moyen de glycol, de méthylal et d'alcool méthylique chez les Spirogyres *exposées à la lumière*, en même temps qu'il confirmait la production d'amidon pour la glycérine. Puis il a indiqué (LANDWIRTHSCHAFTL. JAHRBÜCHER, 1892, p. 465) la formation d'amidon au moyen d'oxyméthylsulfonate de sodium (« formaldehydschwefligsaures Natron »).

Il faut citer aussi les recherches de SAPOSCHNIKOFF (BER. DER D. BOT. GES., 1889 et 1891), E. HAMILTON ACTON (PROCEEDINGS OF THE ROY. SOC., 1889, vol. XLVI, n° 280), G. NADSON (1889, travail en russe, analysé dans BOT. CENTRALBL., 1890, t. XLII, p. 48), E. ASSFAHL (*Ueber die Ernährung grüner Pflanzenzellen mit Glycerin*, Inaug. Diss., Erlangen, 1893), HENRY JACKSON (BRITISH ASSOC. REPORT, 1900, p. 934), etc. Ce dernier auteur a obtenu de l'amidon dans des Spirogyres à l'obscurité, au moyen d'aldéhyde glycolique ou diose ($C^2H^4O^2$).
L. E. 1904.]

bactéries dans la solution semble indiquer que cet alcool tétratomique convient fort peu aux végétaux.

Quant à la mannite et à son isomère, la mélampyrite, celle-ci très peu soluble, je n'en ai constaté aucun emploi utile pour la Pomme de terre. Les tiges se ramollissent et noircissent dans les solutions de ces substances.

Éthers. — L'éther éthylique seul a été essayé ; comme il était à prévoir, il a donné des résultats absolument négatifs.

Il en a été de même du sulfoéthylate et du sulfobutylate de potassium, ainsi que de l'acétal.

Aldéhydes. — Je me suis servi de deux aldéhydes de la série grasse ; l'aldéhyde formique obtenue au moyen du méthylal ajouté à l'eau, et l'aldéhyde acétique. Celle-ci a ramolli les tiges et détruit le protoplasme. Il en a été de même de la paraldéhyde.

Quant à l'aldéhyde formique, il y avait un grand intérêt à en étudier l'action dans ces circonstances. En effet, la formule de ce corps correspond au composé hypothétique dont la théorie fait supposer la formation dans les cellules vertes à la suite de la réduction de l'anhydride carbonique dissous dans le suc cellulaire : $(CO^2 + H^2O) - O^2 = CH^2O$. Cette même formule, multipliée par 6, donne la formule des glycoses.

On pourrait donc admettre qu'il y eût polymérisation de l'aldéhyde formique produite par les feuilles, formation de glycose et précipitation de grains d'amidon au moment où la glycose serait assez abondante à l'intérieur des cellules.

Dès 1870, M. Baeyer [1] avait indiqué l'aldéhyde formique comme premier terme de la réduction de l'anhydride carbonique par la chlorophylle. Plus tard, M. Erlenmeyer [2] et Wurtz [3] ont repris cette hypothèse. Il y a déjà longtemps que Butlerow avait réussi à

---

[1] *Berichte der chemisch. Gesellsch.*, 1870, p. 63.
[2] *Id.*, 1877, p. 634.
[3] *Chimie biologique*, 1880, p. 13.

transformer le trioxyméthylène (obtenu par la polymérisation de l'aldéhyde formique) en une matière offrant quelque analogie avec les sucres et qu'il appelle méthylénitane. Puis, récemment, M. Loew est parvenu à condenser l'aldéhyde formique en une masse gommeuse qui répond à la formule CH^2O et qu'il considère comme un sucre auquel il a donné le nom de formose [1]. M. Loew n'a pas étudié le pouvoir amylogène de ce corps, mais il a essayé à ce point de vue l'action de l'aldéhyde formique. Il a constaté qu'elle est nuisible, même en solutions très diluées.

De mon côté, j'avais fait quelques essais analogues avant de connaître le travail de M. Loew. D'après le Dictionnaire de Wurtz [2], le méthylal au contact de l'eau se dédouble en aldéhyde formique et alcool méthylique. J'ai donc préparé des solutions de méthylal de concentrations diverses; les tiges que j'y plongeais n'ont pas tardé à mourir.

Malgré les résultats négatifs donnés par l'aldéhyde formique, nous ne pouvons pas condamner l'hypothèse de Baeyer, car ce corps pourrait parfaitement se conduire tout autrement dans le protoplasme sain.

Acétones. — L'acétone ordinaire seule de ce groupe a été étudiée; elle n'a donné aucun résultat positif.

Acides organiques et leurs sels. — La plupart des acides organiques solubles ont été essayés :

Acide formique,
» acétique,
» propionique,
» butyrique,
» valérianique,
» lactique,
» oxalique,

[1] *Journ f. prakt. Chemie*, t. XXIII, p. 321; *Bot. Zeit.*, 1886, p. 849.
[2] Supplément, p. 840.

Acide malonique,
» succinique,
» tartrique,
» citrique,
» fumarique.

Tous, même en solution étendue (1 °/₀), sont très nuisibles aux tiges de la Pomme de terre; ils tuent le protoplasme et ramollissent fortement les tissus. Leurs sels sont plus inoffensifs, mais le plus grand nombre ont un pouvoir osmotique très élevé, de sorte qu'en solutions un peu concentrées, ils provoquent la plasmolyse et par suite le ramollissement des tiges. Employés en solutions très étendues (2 ou 5 °/₀₀), les chances de formation d'amidon sont fortement diminuées, dans l'hypothèse même où ils pourraient être utilisés à cet effet. Il faut, en effet, comme M. Schimper l'a montré, que la concentration du suc cellulaire atteigne un certain degré avant qu'il y ait dépôt d'amidon dans les plastides.

Des très nombreux essais que j'ai faits, il résulte que les sels des acides organiques ne se transforment pas en amidon dans la Pomme de terre.

Je dois cependant signaler une série de résultats qui m'ont vivement préoccupé pendant ces recherches. Ils étaient obtenus avec quelques sels qui provoquent la formation de masses granuleuses colorées en rouge par l'iode :

Formiate d'ammonium, 5, 2.5, 1, 0.75, 0.5 °/₀.
» de potassium, 1, 0.75 °/₀.
» de sodium, 1, 0.75 °/₀.
Acétate de potassium, 1, 0.5, 0,2 °/₀.
Tartrate d'ammonium, 1, 0.5 °/₀.
Citrate de potassium, 1, 0.5 °/₀.

Les corps en question sont surtout communs avec les formiates. Je les ai vus isolés dans les cellules de l'épiderme et dans les cellules sous-jacentes, ou groupés dans les cellules internes de l'écorce, plus rarement dans la moelle. Ils me paraissaient avoir une grande analogie avec les masses formées d'amylodextrine, signalées depuis longtemps par M. Naegeli et d'autres observateurs, mais surtout

bien étudiés par MM. Kreusler et Dafert [1] et plus récemment par M. A. Meyer [2] dans certains grains de riz et de sorgho. Tels que je les ai observés, ils se colorent par l'iode en rouge plus ou moins foncé; la chaleur les décolore et il n'y a pas recoloration à froid. Conservés dans des préparations à la glycérine, ils perdent le pouvoir de se colorer par l'iode.

Ces masses sont parfois isolées dans les cellules et elles sont alors assez volumineuses pour en remplir presque toute la cavité. C'est ainsi qu'elles se présentent dans l'épiderme et les couches sous-jacentes. Mais dans les couches plus profondes de l'écorce et dans celles de la moelle, on trouve fréquemment des granules de forme analogue à celle des grains d'amidon, tantôt agglomérés, tantôt distincts les uns des autres. On rencontre aussi des cellules qui, dans la direction de la base du rameau, présentent après l'action de l'iode des traînées d'une matière brun rouge, comme si, à cet endroit de la cellule, il y avait eu accumulation d'amylodextrine.

Ces granules ne se colorent pas par le carmin aluné; après l'emploi de ce réactif, ils cessent d'être colorés par l'iode.

Lorsqu'on opère sur des coupes fraîches, ils disparaissent dans l'acide chlorhydrique concentré et dans l'acide acétique; le sulfate de fer ne les modifie point.

Avec la réaction cupropotassique, les masses persistent, mais, traitées ensuite par l'iode, elles deviennent jaunes.

Des coupes plongées dans la salive pendant dix minutes conservent les masses en question; la coloration est peu foncée lorsque les coupes sont ensuite placées directement dans l'iode. Dans les tiges en putréfaction, ces masses résistent assez longtemps à l'action des bactéries; on les retrouve dans les cellules désagrégées.

La réaction suivante a été faite à l'aide de fragments de tiges mises en expérience dans le formiate d'ammonium à 1 °/₀ et conservées ensuite dans l'alcool absolu. Des coupes plongées dans une solution étendue de carbonate de sodium avaient, au bout de douze heures, leurs masses complètement désagrégées et privées du

[1] *Landwirthsch. Jahrb*, 1884, t. XIII.
[2] *Ber. der deutsch. bot. Gesellsch.*, t. IV, 1886, p. 337.

pouvoir de se colorer en rouge par l'iode; elles étaient jaunes sous l'action de ce réactif.

Ces diverses réactions m'ont fait abandonner l'idée qu'il y eût, dans ces masses, un produit de l'assimilation des formiates et des quelques autres sels cités à la page 331. Je les considère comme dues à l'action de ces sels sur les noyaux et particulièrement sur le boyau de nucléine. Celui-ci se gonfle, comme je l'ai nettement constaté dans quelques préparations. Ce sont, à mon avis, les fragments de ces boyaux qui constituent les masses isolées, agglomérées ou dispersées dans les cellules.

J'ai d'ailleurs répété les réactions obtenues avec ces masses rouges par l'iode en employant de la nucléine préparée par Schuchardt.

Les traînées colorées en rouge par l'iode observées dans la partie inférieure de certaines cellules me paraissent constituées par de la nucléine qui a abandonné le plasma nucléaire.

Amines. — Parmi les amines, la propylamine attaque énergiquement le protoplasme; la triméthylamine s'est montrée sans action utile sur la formation d'amidon. Il en a été de même des amines-acides : glycocolle, méthylglycocolle et leucine.

Amides. — J'avais des solutions diverses de :

Formamide,
Acétamide,
Asparagine,
Urée.

Aucune n'a donné de résultat positif, pas même au point de vue de la croissance des tiges. La formamide à 0.75 et 0.5 °/₀ a donné un assez bon nombre de grains rouges par l'iode comme dans le cas des formiates.

Corps gras. — Les huiles d'olive et de citron ainsi que le stéarate et l'oléate de sodium ont été sans effet utile.

Hydrates de carbone. — Les hydrates de carbone sont incontestablement les corps qui conviennent le mieux à la production

des grains d'amidon. Aussi les ai-je soumis à des essais extrêmement nombreux. Je crois utile d'en signaler les résultats en détail, car ils sont assez intéressants au point de vue de l'influence de la concentration des solutions nourricières.

Quercite. — En solution à 10 et 5 %, ce corps a été sans effet utile.

Dextrose. — En solution à 25 et 20 %, la dextrose provoque la plasmolyse; les tiges se ratatinent; pas d'amidon.

Avec 15 %, il y a encore plasmolyse, avec un peu d'amidon. Les tiges sont saines avec 10, 5 et 2.5 %; sous le rapport de la formation d'amidon, c'est la solution à 5 % que j'ai trouvée la plus favorable, puis 10 % et 2.5 %.

Lévulose. — Une solution à 20 % plasmolyse et ne produit pas d'amidon. Avec les solutions moins concentrées, il y a formation d'amidon, surtout avec 10 %, un peu moins avec 5 % et moins encore avec 2.5 %. Comme dans les essais avec la dextrose, les grains sont assez petits; ce dernier corps convient cependant mieux que la lévulose à l'amylogenèse.

Galactose. — Des solutions à 25, 20, 15 et 10 % plasmolysent les cellules. Avec 10 et 5 %, j'ai observé çà et là de très petits grains d'amidon.

Inosite. — Aucune production d'amidon n'a été constatée avec des solutions à 4 et 2 %.

Saccharose. — La solution à 1 % ne donne pas d'amidon.
» à 2 % donne un peu d'amidon; les tiges continuent à croître.
» à 5 % donne beaucoup d'amidon.
» à 10 % donne une très grande quantité de gros grains d'amidon.
» à 15 et 20 % donne une quantité énorme de gros grains d'amidon.

La formation d'amidon diminue, mais est encore très importante avec 25, 30, 35 et 40 %, malgré l'action osmotique déjà considérable de ces solutions.

Mais c'est avec 10 et surtout 15 et 20 % que l'on obtient les plus beaux résultats; souvent alors il y a production de tubercules à l'endroit des bourgeons latéraux ou dans la région terminale.

De longues tiges plongées dans des solutions de saccharose présentaient de l'amidon en abondance jusqu'à 30 centimètres de hauteur.

Dans mes essais, j'ai remarqué que les solutions à 10, 15 et 20 % sont préférables, non seulement parce que ce sont les plus favorables à la production d'amidon, mais encore parce que ce sont celles qui entretiennent la vie de la tige pendant le temps le plus long. Avec des solutions à 1, 2 et 5 %, les tiges se décomposent rapidement par suite de l'action des ferments (levures et bactéries); tandis que les solutions à 25, 30, 35 et 40 % déterminent la plasmolyse, ce qui diminue la vitalité des cellules. Ainsi les tiges ne tardent pas à être envahies par les moisissures, surtout par le mycélium du *Peziza Sclerotiorum*. Les solutions à 10, 15 et 20 % semblent assez contraires à ces divers organismes, sans nuire à la Pomme de terre.

A la suite des résultats produits sur la Pomme de terre par la saccharose, j'ai essayé de cultiver des plantes complètes dans des solutions sucrées. J'ajoutais 2 % de saccharose au mélange salin de Sachs indiqué à la page 323. Des Maïs germés à l'obscurité et conservés jusqu'au moment où leurs réserves amylacées avaient complètement disparu, furent cultivés dans ces solutions comparativement avec d'autres qui étaient nourris dans la solution minérale seule. Les expériences n'eurent guère de succès à cause de l'abondance des plantes inférieures (moisissures, levures, bactéries) qui ont envahi les solutions sucrées, malgré tous mes efforts pour les stériliser. Ces êtres luttent pour l'oxygène dissous dans l'eau avec les racines des Maïs; celles-ci ne tardent pas à devenir malades et à être envahies par les saprophytes. Cependant, par le renouvellement journalier des solutions sucrées, je suis parvenu à main-

tenir des Maïs pendant un temps assez long et à obtenir, dans leurs racines, une petite quantité de grains d'amidon.

Lactose. — Il y a assez bien de grains d'amidon avec une solution à 10 °/₀; 5 °/₀ est moins favorable; 2 °/₀ ne donne aucun résultat positif. Des solutions à 15, 20 et 25 °/₀ provoquent la plasmolyse, mais donnent un peu d'amidon.

Maltose. — Des solutions à 10 et 5 °/₀ ont produit des quantités énormes d'amidon. Je n'ai pas eu l'occasion d'examiner l'action de solutions plus concentrées.

Dextrine. — J'ai fait beaucoup d'essais avec la dextrine du commerce, qui renferme surtout de l'érythrodextrine. Il semblerait que la grande analogie de composition de ce corps avec l'amidon dût le rendre propre à la formation amylacée. Il ne me paraît pas qu'il en soit ainsi, et il faut probablement en attribuer la cause à la viscosité des solutions de dextrine : la diffusion en est très difficile dans les parenchymes. Souvent je retrouvais l'érythrodextrine dans l'intérieur des vaisseaux et des tubes criblés, même à l'intérieur de cellules voisines de la section immergée dans la solution. J'y ai parfois rencontré quelques petits grains d'amidon, mais ils me paraissent dus aux glycoses que les bactéries peuvent donner par dédoublement de la dextrine.

L'*inuline* et la *lichénine*, à saturation, n'ont pas donné de trace d'amidon; la première est sans action nuisible sur les tiges, l'autre les rend flasques.

Glycogène. — Quant au glycogène, remarquons que cette réserve hydrocarbonée des animaux et des Champignons n'est pas assimilée par la Pomme de terre. Il est vraisemblable qu'il n'est pas assez diffusible pour traverser les membranes de cellulose sans digestion préalable.

Composés aromatiques. — L'hydroquinone, la quinone, la vanilline, les benzoates d'ammonium et de sodium, les salicylates d'am-

monium et de sodium, le gallate d'ammonium, le tannin et les tannates d'ammonium et de sodium se sont montrés sans action utile sur la Pomme de terre. L'hydroquinone et la quinone noircissent fortement les tissus.

Ces résultats sont surtout intéressants pour le tannin et ses sels, dont on a tant discuté le rôle dans les plantes.

Glycosides et alcaloïdes. — Tous ceux que j'ai employés ont été sans effet utile sur la Pomme de terre. Un grand nombre en ont même altéré fortement les tiges : colchicine, atropine, caféine et surtout solanine. Ces résultats confirment l'opinion émise par M. Sachs, M. Gautier et tout récemment par M. Errera : « Les alcaloïdes ne sauraient guère être envisagés que comme des déchets de l'activité protoplasmique [1] ».

L'action nuisible de la solanine est particulièrement curieuse. C'est un nouvel exemple de la différence entre l'influence d'un corps donné extérieurement à la plante et celle du même corps lorsqu'il se trouve naturellement dans le suc cellulaire. Comme le suppose M. Errera, il faut sans doute faire intervenir ici le rôle isolateur de la membrane de la vacuole.

Albuminoïdes. — Malgré les essais assez variés que j'ai faits avec la peptone, je suis porté à admettre qu'elle n'est pas utilisée pour la production de l'amidon. Comme la dextrine, elle n'est pas fort diffusible et elle a en outre l'inconvénient d'être très nuisible dès que les bactéries envahissent les solutions. Il est probable que la présence de ces micro-organismes, ici presque inévitable, détermine la production de la peptotoxine de M. Brieger, et que c'est ce corps qui tue si rapidement les tissus de la Pomme de terre. Toujours est-il que la destruction en est d'autant plus rapide que la concentration des solutions est plus grande.

---

[1] Errera, Maistriau et Clautriau. *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes,* in *Bull. de l'Acad. royale de Belg.,* 1887, p. 272, et *Journal de la Soc. des sc. médic. et nat. de Bruxelles,* 1887.

EXPÉRIENCES FAITES A LA LUMIÈRE.

Tous les essais que je viens de relater ont été faits à l'obscurité. Il y a lieu de les compléter par des expériences faites à la lumière. D'après un travail de M. Stutzer [1], on peut remplacer l'anhydride carbonique de l'air par certaines substances organiques qui, ajoutées au sol, contribueraient directement à l'augmentation de la matière sèche des végétaux. Il dit avoir réussi avec la glycérine, l'acide acétique, l'acide succinique, l'acide tartrique, mais non avec l'acide oxalique.

Ces résultats, critiqués par M. Schmöger [2], sont trop extraordinaires pour ne pas les répéter avec la plus grande rigueur expérimentale. Il est même assez étrange qu'on ne l'ait pas fait plus tôt, puisque l'on a voulu voir dans les essais de M. Stutzer un argument en faveur de l'intervention directe des matières organiques du sol dans l'alimentation des plantes cultivées [3].

Dans ces expériences, comme le fait remarquer M. Schmöger, il importait d'éviter l'erreur qui pouvait résulter de la présence d'anhydride carbonique dans le milieu ambiant.

Avant d'avoir recours à des appareils plus compliqués, j'ai employé le dispositif suivant. J'ai pris une cloche qui s'appliquait exactement sur une lame de verre de façon à éviter toute pénétration de l'air extérieur. Sous cette cloche, j'ai disposé les flacons qui renfermaient les solutions à essayer et dans lesquels plongeaient les tiges de la Pomme de terre. A côté, j'ai placé un récipient assez large avec une solution concentrée de potasse caustique.

Les solutions essayées dans ces conditions furent les suivantes :

Formiate d'ammonium 1 °/₀₀.
Acétate » »

---

1 *Berichte der chem. Gesellsch.*, 1876, pp. 1395 et 1570; *Bot. Zeit.*, 1877, p. 222.

2 *Berichte chem. Ges.*, 1879, p. 753.

3 A. Petermann. *Recherches sur la dialyse des terres arables*, in *Bull. de l'Acad. royale de Belg.*, 3e série, t. III, p. 74.

Citrate d'ammonium 1 °/₀.
Tartrate » »
Oxalate » »
Lactate de calcium »

Il y avait une série de tiges étiolées et une autre de tiges vertes, qui s'étaient développées à la lumière, mais qui avaient été privées de leurs réserves nutritives par un court séjour à l'obscurité. Les unes et les autres furent exposées à une lumière modérée, qui suffisait à la décomposition d'anhydride carbonique et à la formation d'amidon par les feuilles vertes de tiges plongées dans l'eau distillée. Toutes les tiges mises sous cloche dans les solutions organiques n'ont pas tardé à mourir sans présenter les moindres traces d'amidon.

Il n'y a donc que les résultats donnés par la glycérine qui paraissent exacts dans le travail de M. Stutzer; encore est-il douteux que l'expérience réussisse dans les conditions adoptées par cet auteur. En effet, la glycérine convient tellement aux bactéries du sol que les racines des plantes n'auront pu en tirer profit.

CONCLUSIONS.

Quelles conclusions peut-on tirer de ces recherches sur le rôle amylogène des corps organiques? Il n'y a lieu d'être affirmatif que pour les résultats positifs, puisque, comme je l'ai fait remarquer précédemment, beaucoup de corps peuvent avoir à l'intérieur des cellules une action différente de celle qu'ils présentent dans les expériences de nutrition organique.

Comme résultats positifs, j'ai constaté que pour la Pomme de terre, sept corps peuvent être transformés en amidon. Ce sont : la glycérine, la dextrose, la lévulose, la galactose, la saccharose, la lactose et la maltose.

En dehors des sucres, un seul corps peut donc donner naissance à l'amidon dans la Pomme de terre.

Nous pouvons considérer comme sans effet direct sur l'amylogenèse les alcools monoatomiques, le glycol, les alcools tétrato-

miques et hexatomiques, les éthers, les aldéhydes, les corps gras, les amines et les amides, les composés aromatiques, les glycosides et les alcaloïdes.

Si l'on compare mes résultats à ceux qu'a obtenus M. A. Meyer, on voit que, sauf pour la lactose et pour quelques résultats exceptionnels (mannite pour Oléacées, dulcite pour Fusain), il y a concordance parfaite.

Il n'est peut-être pas sans intérêt de comparer les corps producteurs d'amidon avec les substances qui, d'après M. Hoppe-Seyler [1], peuvent donner du glycogène chez les animaux. En voici la liste :

Dextrose,
Lévulose,
Saccharose,
Monoacétylsaccharose,
Lactose,
Inuline,
Glycogène,
Amidon,
Lichénine,
Glycérine,
Huile d'olive (très peu),
Albuminoïdes,
Gélatine,
Arbutine.

Comme corps non glycogéniques, M. Hoppe-Seyler cite la gomme arabique, l'inosite, la mannite, la quercite, les graisses, les savons, les sels de l'acide glycéro-phosphorique, les sels des acides lactique et tartrique.

Il serait peu exact d'admettre *a priori* que les corps qui ne sont pas utilisés pour la formation d'amidon soient sans action utile sur l'alimentation des végétaux à chlorophylle. C'est pour cette raison que j'ai eu soin de noter les effets de chaque solution employée sur la vie des tiges mises en expérience. Dans la descrip-

[1] *Physiolog. Chemie*, pp. 709 et suiv., et p. 958.

tion de la méthode adoptée, j'ai indiqué par quel moyen j'appréciais la croissance de ces tiges : je marquais dès le début un point à l'encre de Chine à 5 centimètres du sommet du rameau étiolé. Pour le moment, je me bornerai à dire que les exemples d'accroissement provoqué par des solutions organiques dépourvues de pouvoir amylogène sont extrêmement rares. Dans un prochain travail, je discuterai ces observations ainsi que diverses expériences sur l'absorption des matières organiques du sol par les racines des plantes cultivées.

Enfin une substance offerte à la plante peut encore lui être utile sans provoquer ni son allongement, ni la formation de réserves nutritives, mais en servant de combustible respiratoire. Un exemple typique de cette distinction, qui n'est cependant pas absolue, nous est fourni par l'*Aspergillus niger* et a été signalé par M. Duclaux [1]. Tandis que la saccharose et la glycose suffisent à une végétation complète de ce champignon, l'alcool, l'acide acétique et même l'acide oxalique sont brûlés par la plante arrivée à l'état adulte. Ce sont là de véritables aliments d'entretien avec lesquels l'*Aspergillus* ne pourrait que péniblement édifier de la matière vivante, mais qui, par leur combustion, peuvent développer assez d'énergie pour servir à l'entretien d'organes déjà formés.

Bruxelles. Laboratoire de physiologie végétale de l'Université.

[1] *Bull. de la Soc. de biologie de Paris,* mai 1885.

GLYCOGÈNE ET « PARAGLYCOGÈNE »

CHEZ

LES VÉGÉTAUX

PAR

L. ERRERA

M. Errera avait commencé à rédiger le présent travail en 1902, mais la Société dans le bulletin de laquelle il voulait le publier ayant cessé d'exister, il en remit à plus tard la rédaction, et il voulait la reprendre, pour l'impression dans ce *Recueil,* au moment où la mort l'a frappé.

Ce travail devait principalement comprendre l'exposé des observations faites : 1° sur une Laboulbéniacée; 2° sur divers organismes inférieurs que M. Errera avait étudiés pendant un séjour au laboratoire ambulant de l'Université, installé à Coxyde, pendant l'été de 1900.

Pour éviter de trahir la pensée de l'auteur, je me contente de publier : 1° la courte introduction écrite de sa main; 2° les observations telles qu'elles sont consignées dans son cahier de notes; j'ai copié textuellement ce cahier; j'y laisse la mention des dessins faits par M. Errera, et qui seront peut-être publiés plus tard; 3° la liste, aussi complète que possible, des organismes dans lesquels M. L. Errera a recherché le glycogène et le « paraglycogène ».

M. Commelin, assistant à l'Institut botanique, a bien voulu se charger de réunir toutes les notes bibliographiques que M. Errera possédait sur le glycogène et le « paraglycogène ». Cette bibliographie se trouve après le présent travail. J. M.

Depuis l'époque déjà lointaine où j'ai indiqué l'existence du glycogène — identique à celui des animaux — chez un certain nombre de Champignons, je n'ai cessé, chaque fois que l'occasion s'en présentait, de poursuivre mes recherches sur ce sujet. Après m'être d'abord occupé surtout de sa présence chez les Ascomycètes [1],

---

[1] Voir p. 1 de ce volume.

je l'ai étudié ensuite chez diverses Mucorinées[1], puis chez les Basidiomycètes[2]. J'ai pu l'examiner aussi dans la Levure de bière[3] et me suis assuré de son emmagasinement, comme substance de réserve, dans divers sclérotes[4].

Je me propose de donner ici, en attendant un travail plus développé et accompagné des figures nécessaires, la liste des groupes où j'ai eu l'occasion de reconnaître sa présence. On verra que le glycogène se retrouve dans tous les groupes de Champignons.

. . . .

I. **Stigmatomyces muscae** (Laboulbéniacées) sur *Musca domestica*. — Matériaux dans l'alcool que je dois à Roland Thaxter.

8 novembre 1900. — Dans un individu à peu près développé, on distingue aisément les quatre parties indiquées par Thaxter[5], savoir : le *pied*, le *réceptacle*, le *périthèce*, l'*appendice avec les anthéridies*.

Un individu au stade des figures 13 et 14, planche I, de Thaxter, *op. cit.*, est traité par l'iode dans l'iodure de potassium : le protoplasme des deux cellules du réceptable se colore en jaune, leur paroi épaissie en jaune très pâle, tandis que les cellules du périthèce et de l'appendice se colorent presque toujours en jaune orangé un peu brunâtre, comme s'il s'y trouvait du glycogène (très peu) intimement mélangé au protoplasme.

Deux autres spécimens à peu près au même stade donnent le même résultat; seulement, dans l'un, la cellule supérieure du réceptacle se colore aussi en jaune orangé[6].

---

[1] Voir p. 71 de ce volume.

[2] Voir p. 77 de ce volume.

[3] Voir p. 125 de ce volume.

[4] Voir p. 129 de ce volume.

[5] R. Thaxter, *Contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae.* (Mem. of Amer. Acad. of Arts and Sc. Boston, 1896.)

[6] *N. B.* Je vois nettement dans les cellules le gros noyau à nucléole réfringent indiqué par Thaxter.

Deux autres spécimens, qui sont également à peu près au même stade, sont étudiés : dans l'un, la cellule inférieure du réceptacle contient à sa base un petit amas réfringent qui se colore nettement en jaune orangé brunâtre ; la teinte pâlit à chaud et revient par le refroidissement.

Un autre spécimen, traité par un excès d'iode, présente une coloration chamois dans les *parois* épaissies des deux cellules du réceptacle et dans celles du périthèce. La coloration pâlit par la chaleur et ne revient pas par le refroidissement.

12 novembre 1900. — Un individu vers le moment de la fécondation présente par l'iode à 0.5 °/₀ environ (dans l'iodure de potassium) une coloration jaune orangé un peu brunâtre de toutes les cellules du périthèce et de presque toutes celles de l'appendice. Une coloration semblable s'observe vers le haut de la cellule supérieure du réceptacle, tandis que l'inférieure présente vers sa base un amas homogène, réfringent, ayant tout à fait l'aspect d'une petite masse de glycogène et se colorant nettement en brun-acajou pâle. Par la chaleur, la coloration pâlit, passant au jaune et revient indubitablement par le refroidissement. Ce phénomène se voit dans le périthèce et l'appendice, mais est surtout frappant dans le petit amas en question de la cellule inférieure du réceptacle.

On en doit conclure que les Laboulbéniacées peuvent former du glycogène ; qu'il y en a ici un petit amas dans l'une des cellules du réceptable ; et qu'il y en a, en outre, une petite quantité imprégnant tout le protoplasme des cellules du périthèce et de l'appendice.

Divers individus très jeunes [1] se colorent seulement en jaune par l'iode sans aucune nuance glycogénique.

21 décembre 1900. — Examen d'un individu adulte [2]. Par l'iode à 1 °/₀, la cellule inférieure du réceptacle se colore en jaune légèrement brunâtre ; la cellule supérieure du réceptacle se colore en

[1] Thaxter, *loc. cit.*, pl. I, fig. 6-10.
[2] Id., *ibid.*, pl. I, fig. 24.

jaune; la paroi épaisse, hyaline, d'aspect gélifié, de ces deux cellules se colore en jaune pâle; les cellules de l'appendice, de l'anthéridie et surtout celles du périthèce se colorent en jaune-brun rougeâtre. Parmi ces cellules, les jeunes asques sont surtout colorés en brun rouge assez intense; leur contenu est assez réfringent. Les parois cellulaires hyalines de l'appendice, de l'anthéridie et surtout du périthèce se colorent en jaune brun un peu rougeâtre, bien plus foncé que les parois des deux cellules du réceptacle et rappelant assez bien la teinte prise par le contenu des cellules du périthèce; toutefois, tout à fait vers le sommet du périthèce, les parois se colorent seulement en jaune à peine brunâtre. En chauffant modérément, on constate que la teinte des cellules de l'appendice, de l'anthéridie et du périthèce pâlit, en passant au jaune, pour revenir par le refroidissement. Les parois assez fortement colorées de cette région ne pâlissent guère par un chauffage modéré. Enfin, le pied présente déjà à l'état naturel une coloration brun foncé que l'addition d'iode ne modifie guère.

Conclusion. — Il y a une petite quantité de glycogène intimement mélangée au cytoplasme de cette espèce : très peu dans la cellule inférieure du réceptacle, pas du tout dans la supérieure, davantage dans les autres cellules de la plante, surtout dans les cellules qui forment les asques.

J'ai fait un dessin colorié de cet individu de *Stigmatomyces*. Après quoi, je l'écrase sous le microscope, dans la solution d'iode, de façon à dissocier les cellules : il n'y a pas de doute que la coloration brun rouge siège dans une substance fondamentale assez homogène du contenu même des cellules, — outre une coloration brunâtre, moins intense, des membranes hyalines du périthèce.

II. **Oscillatoria formosa** Bory. — Sur la terre humide à Coxyde, août 1900.

Dans cette Oscillaire, le « corps central » est nettement visible à l'état vivant, entouré de la « couche pariétale », qui renferme la matière colorante.

Par l'iode à 1 °/₀ dans l'iodure de potassium, la couche pariétale

se colore en brun plus ou moins foncé, le corps devenant jaune. Avec l'objectif à immersion homogène, on s'assure que la teinte brune n'est pas uniformément répartie dans la couche pariétale, mais que celle-ci, colorée en jaune par l'iode, renferme de petites masses irrégulières qui se sont colorées en brun. On a l'impression de vacuoles dans lesquelles se trouverait, à l'état amorphe, la substance colorable en brun, dont j'ai fait un dessin colorié.

Cette coloration brune est un peu acajou; elle pâlit nettement à chaud et revient par le refroidissement. Les cellules sont si petites que l'écrasement ne m'a pas donné de résultats certains. Il y a néanmoins tout lieu d'admettre que nous avons affaire ici à du glycogène ou à une substance très voisine. Dans la plupart des cellules, la substance colorable en brun est surtout abondante dans la partie de la couche pariétale proche des parois transversales. La quantité varie notablement d'un filament à l'autre et d'une cellule à l'autre d'un même filament. La cellule terminale et la sous-jacente sont généralement assez pauvres; et l'on observe, çà et là, dans les filaments, une ou plusieurs cellules beaucoup plus riches que leurs voisines. Dans certains cas, j'ai constaté que c'étaient des cellules sur le point de se diviser. Mais cette règle ne paraît pas toujours applicable.

Dans le cas actuel, il ne saurait y avoir l'ombre d'un doute que la substance colorable en brun siège dans la couche pariétale du *contenu cellulaire*, et non dans une gaine gélatineuse extérieure. Une telle gaine n'est du reste pas visible dans cette espèce.

III. **Merismopedia.** — Dans des fossés à Palingbrugge et à Coxyde, 29 août 1900.

Chez *Merismopedia glauca* Nägeli, dont les cellules sont d'un vert olivâtre, l'iode à 1 °/₀ dans l'iodure de potassium produit dans la plupart des colonies une coloration jaune-brun verdâtre assez uniforme, qui pâlit nettement à chaud et devient jaune verdâtre, pour revenir très nettement à la teinte primitive par le refroidissement.

Chez *Merismopedia elegans* A. Braun, dont les grandes cellules ont une teinte vert bleuâtre vif, l'iode à 1 °/₀ produit une coloration

très foncée, brun foncé un peu verdâtre. A des grossissements modérés, la teinte paraît uniformément répartie dans la cellule; mais avec l'objectif à immersion homogène et un fort éclairage, on reconnaît que la substance fondamentale de la cellule est colorée en jaune un peu verdâtre, et que dans cette substance se trouvent des masses plus ou moins arrondies, colorées en brun. Ces masses sont situées à la partie périphérique de la cellule, laissant voir par transparence une portion centrale plus claire, répondant au corps central (voir mon dessin). Dans cette espèce également, la teinte pâlit à chaud et se fonce de nouveau par le refroidissement; mais sans doute à cause de la matière colorante abondante et de la grosseur relative de la cellule, les changements de teinte sont moins frappants que dans *Merismopedia glauca*.

J'ai écrasé un grand nombre d'individus de ces deux espèces de *Merismopedia* sous le microscope, dans une solution d'iode à 1 °/₀ et à $^1/_2$ °/₀. Bien qu'il y eût écrasement complet et même trituration entre la lame et la lamelle, je n'ai jamais vu de nuage coloré se répandre autour de la cellule, comme on le voit dans le glycogène typique. La substance colorable en brun doit donc se trouver ici à un état plus solide que ne l'est le glycogène ordinaire; par là et par la formation plus ou moins nette de grains, cette substance se rapproche plutôt du paraglycogène [1].

IV. **Oxyrrhis marina** Dujardin [2], provenant d'un fossé d'eau saumâtre des fortifications de Nieuport, à Palingbrugge, étudié à Coxyde le 5 et le 7 septembre 1900.

Ce Flagellate incolore, à nutrition animale, est l'un des rares Flagellates qui se divisent transversalement. La partie intérieure du corps se colore en brun-acajou faible par l'iode assez fort (1 °/₀ environ), tandis que le pourtour, et surtout les deux bouts, l'antérieur et le postérieur, se colorent sensiblement en jaune. La coloration

[1] Voir la note p. 359.
[2] Cet *Oxyrrhis marina* est celui qui est figuré dans Senn, *Flagellaten* in *Engler u. Prantl's Natürl. Pflanzenfam.*, I, 1a, à la page 137, et non celui de la page 185.

brune paraît siéger dans des granules irrégulièrement arrondis, mais difficiles à définir, même avec l'immersion homogène. L'écrasement prouve que la matière colorable en brun est molle, mais on ne voit aucun nuage brun autour de l'objet; il est vrai que des Infusoires de la même préparation, colorés également en brun par l'iode, ne donnent pas non plus de nuage autour d'eux.

La coloration brune m'a paru pâlir à chaud et revenir par le refroidissement, mais malgré des essais très répétés, je n'ai pu arriver à une certitude complète.

V. **Colacium vesiculosum** Stein. — Flagellate vert (Euglénacée) qui s'est développé depuis quelques jours sur les *Daphnia magna* de l'abreuvoir de la ferme « de Groote Kwinte ».

15 septembre 1900. — Pas d'amidon. Présente par l'iode une coloration brune pas très forte. Je le décolore par l'alcool absolu et le traite par l'iode à 1 °/₀ dans l'iodure de potassium. L'organisme, même avec un grand excès d'iode, se colore en jaune à peine brunâtre; il renferme plusieurs grains brillants, qui demeurent incolores (paramylon ?).

16 septembre 1900. — La coloration brune par l'iode varie beaucoup d'un individu à l'autre. Dans la même préparation prise vivante (non décolorée par l'alcool), certains individus se colorent à peine par l'iode à 1°/₀, d'autres assez fortement en brun; ceci se voit surtout, mais non exclusivement, chez les individus qui semblent fixés de façon plus définitive et sont réunis en grand nombre. La coloration siège dans toute la substance fondamentale sous forme de très petites masses arrondies. Il m'a paru certain que cette coloration, quoique pas très forte, pâlit à chaud et revient par le refroidissement [1]. Nous avons donc *probablement* ici du glycogène chez un organisme renfermant de la chlorophylle et chez

[1] Massart a constaté le pâlissement à chaud et le retour de la couleur à froid.

lequel on indique du paramylon [1]. J'ai constaté que les plus gros grains gonflent et disparaissent dans la potasse : c'est donc du paramylon. (Voir mon dessin.)

19 septembre 1900. — Le dessin fait aujourd'hui montre deux individus provenant de bipartition, attachés sur la surface de *Daphnia magna*, et se présentant fort bien pour l'observation. Par la solution d'iode à 1 °/o, on obtient une teinte brune beaucoup plus forte que l'autre. On y voit : 1° des grains (de paramylon) qui ne sont certainement pas colorés par l'iode, mais qui, par suite de leur réfringence, paraissent foncés à une certaine mise au point; 2° le noyau (dans le plus pâle des deux individus), faiblement coloré; 3° une substance fondamentale, colorée en brun-acajou, plus ou moins intense, par masses irrégulières, à contours peu nets, comme on le voit souvent pour le glycogène. Les plastides sont aussi légèrement colorées en brun, et par suite de la double épaisseur qu'elles présentent au bord de la cellule, elles semblent assez foncées.

D'après tout ceci, il semble probable qu'il y a chez cet organisme vert *un peu* de glycogène réparti dans la substance fondamentale [2].

VI. **Thiocystis violacea** Winogradsky, provenant d'un fossé d'eau saumâtre des fortifications de Nieuport, à Palingbrugge, étudié à Coxyde en septembre 1900.

Les colonies, rose violacé, de cette Thiobactérie, prennent par l'iode une teinte brun foncé un peu verdâtre. Par la chaleur, la teinte pâlit nettement et passe au jaune verdâtre sale, pour repren-

[1] G. Klebs, dans *Unters. a. d. bot. Inst. z. Tübingen*, t. I, p. 321.

[2] J'ai constaté l'absence de glycogène chez *Noctiluca miliaris*, chez *Chromulina ovalis* Klebs et chez *Euglena Ehrenbergii* Klebs. Massart a fait la même constatation chez les Flagellates suivants : *Astasia sp.* (incolore, riche en paramylon, à nutrition saprophytique); *Peranema trichophorum* (incolore, avec peu de paramylon, à nutrition animale); *Eutreptia viridis* (vert, autotrophe, avec un peu de paramylon) ; *Phacus* et *Euglena*, plusieurs espèces (verts, avec paramylon).

dre la nuance première par le refroidissement. Il n'est donc pas improbable que cet organisme renferme du glycogène; toutefois, il faudrait être plus sûr que la matière colorable siège dans le contenu, comme je le crois, et non dans la membrane, comme c'est possible. La teinte jaune verdâtre persistante que j'ai obtenue ainsi chez *Thiocystis* provient très probablement de l'action de l'iode sur la matière colorante rose de ces Thiobactéries.

VII. **Beggiatoa sp.** (**B. pigra**, MASSART [1]).

Novembre 1901. — Cette grande espèce incolore présente dans ses cellules une couche de protoplasme périphérique, avec une grande vacuole centrale, ou plusieurs petites; des grains réfringents, qui sont du soufre, et d'autres, plus pâles, plus gros, souvent un peu allongés. Par l'iode dans l'iodure de potassium, le protoplasme se colore en jaune, le soufre ne se colore pas, les gros grains, plus pâles, se colorent en brun. Il faut une quantité relativement grande d'iode pour les colorer nettement : ils deviennent d'abord jaunes, puis bruns un peu violacé, puis bruns plus rougeâtre. Dans certains cas, je les ai vus se colorer en brun violet très foncé. Ces grains ressemblent ainsi assez fortement au paraglycogène. Hinze [2] les appelle *amyline* chez une espèce voisine, *B. mirabilis.*

Certains filaments ont leurs cellules bourrées de ces grains; d'autres en renferment peu (voir fig. 1); d'autres, qui paraissent malades, n'en renferment pas du tout. Ces grains — comme chez *Amoebidium* — sont assez rares, quoique à contours nets. Certaines cellules du filament sont parfois élargies en forme de tonneau : ces

[1] C'est un *Beggiatoa* de grandes dimensions, de la même taille que *B. mirabilis.* Massart l'a trouvé dans un fossé d'eau saumâtre, qui a fait partie des anciennes fortifications de Nieuport, à Palingbrugge, en novembre 1900. Il l'appelle, dans ses notes, *B. pigra,* à cause de la lenteur de ses mouvements.

[2] G. HINZE, *Untersuchungen über den Bau von* Beggiatoa mirabilis. (WISS. MEERESUNTERSUCH. ABTH. KIEL. Neue Folge, Bd VI, 1902.)

cellules ne diffèrent pas sensiblement, par leur contenu, des autres (fig. 2). Par l'alcool absolu, on dissout aisément les grains de soufre, tandis que les grains de « paraglycogène? » persistent et présentent encore leur colorabilité par l'iode (fig. 2). (Remarquons que ces filaments, traités par l'iode dans l'iodure de potassium, montrent très nettement la structure cellulaire et révèlent l'existence indubitable d'une membrane mince, distincte du contenu.) C'est surtout après que la même préparation a été chauffée plusieurs fois avec la solution d'iode que les grains de « paraglycogène? » prennent une teinte violacée.

Le diamètre des filaments de ce *Beggiatoa* est de 20 à 30 μ. Les grains de « paraglycogène » ont depuis 2,5 μ et peuvent atteindre jusqu'à 8,5 μ de diamètre. — Certaines cellules sont littéralement bourrées de grains. — Si l'on traite un filament frais par l'iode en quantités croissantes, on voit d'abord le protoplasme et les grains (autres que ceux de soufre) se colorer en jaune; puis ces grains passent au jaune brun, brun un peu violacé, violet brunâtre assez semblable à la coloration de certains amidons. En ne laissant que peu d'iode dans le liquide ambiant et chauffant fortement, il y a pâlissement, avec retour à la teinte primitive par le refroidissement. Mais la chose se fait plus difficilement que pour le glycogène. Par le chlorure de zinc iodé, le contenu cellulaire se contracte et se sépare nettement de la membrane; le protoplasme devient jaune vif, les grains de soufre persistent, les grains de « paraglycogène » se gonflent et prennent une teinte nettement rose violacé; un excès d'iode les brunit.

Décembre 1901. — A la lumière polarisée (avec objectif de Hartnack, 9 à immersion), sur le vivant, les grains de soufre ne se montrent pas biréfringents, les grains de « paraglycogène » de cet organisme ne paraissent pas s'éclairer non plus d'une façon sensible; tout au plus faible biréfringence. La membrane de *Beggiotoa* paraît assez nettement biréfringente. Dans les exemplaires privés de soufre par l'alcool et observés dans l'eau, même résultat : c'est-à-dire, membrane légèrement biréfringente; biréfringence des grains douteuse, et en tous cas extrêmement faible. Je n'y ai jamais vu de croix noire.

Par le réactif de Millon en excès (de façon à précipiter d'abord tout le chlorure de sodium de l'eau saumâtre) à froid, ou après chauffage, le *Beggiatoa* présente :

une membrane incolore ;

un protoplasme rose pâle ;

les grains de « paraglycogène » persistent, incolores ;

les grains de soufre également.

Dans ces mêmes conditions, les Infusoires de la préparation se colorent en rose plus vif.

Par l'iode à 1 °/₀ dans la solution d'iodure de potassium, les grains deviennent bruns (brun terne, un peu grisâtre) ; l'addition d'acide sulfurique les fait passer au brun rouge.

∴

Matériaux privés de leur soufre par le séjour dans l'alcool absolu.

Par l'iode dans l'iodure de potassium à $^1/_{450}$, pénétrant graduellement, les grains de « paraglycogène » deviennent jaunes, puis jaune grisâtre, puis jaune brunâtre, jaune brun, brun terne ; il faut, en somme, assez bien d'iode pour les colorer en brun. Par l'iode à 1 °/₀, leur couleur passe ensuite au brun foncé, et finalement au brun noir et presque au noir. (Ces indications de teintes sont prises à la lumière du jour et sont bien certaines.) En lavant ensuite à l'eau, les grains, tout en restant très foncés, me paraissent offrir une teinte noire un peu violacée (du reste, déjà par l'iode seul, j'ai quelquefois obtenu une coloration brun violacé sale des grains). J'ajoute maintenant une goutte d'acide sulfurique concentré, au bord de la lamelle. La couleur des grains passe alors à un beau violet foncé indiscutable, puis à un violet pâle, en même temps qu'ils gonflent (couleur d'une forte teinte d'hématoxyline ou de violet de gentiane), puis ils se décolorent par l'excès d'acide et deviennent invisibles. La membrane de *Beggiatoa* ne présente aucune coloration. (Il se forme parfois sur les filaments, par l'effet de l'acide sulfurique, un précipité granuleux, probablement d'iode?) Je lave à l'eau : les filaments restent décolorés, leur protoplasme seul présentant encore une teinte jaune ; les grains ne

sont plus visibles. J'ajoute de l'iode à $^1/_{450}$: le protoplasme devient jaune très foncé; mais aucune teinte violacée ou brune ne se produit, et les grains ont bien nettement disparu. Je relave et j'ajoute du réactif cupro-potassique de Haines : les filaments se décolorent tout à fait et gonflent un peu. Je porte à l'ébullition : il y a dans tout le liquide des grains jaunes, assez abondants, d'oxydule; mais je ne retrouve plus les filaments de *Beggiatoa* qui ont probablement été désorganisés tout à fait par les tortures subies. (Mais comme il y a aussi une *trace* de réduction d'oxydule quand je chauffe le liquide de Haines tout seul, dans les mêmes conditions, la réduction ci-dessus n'est pas tout à fait probante.)

Après chauffage *répété* jusque vers l'ébullition, les grains (dans les matériaux fixés par l'alcool) gonflent et forment partiellement un empois dans la cavité cellulaire. Traités ensuite par l'iode à $^1/_{450}$, on voit se colorer en violet vineux non seulement les grains plus ou moins gonflés, mais aussi l'empois qui remplit la cavité cellulaire. Cette teinte pâlit (difficilement) à chaud et revient ensuite par le refroidissement. Les cellules à grains ainsi gonflés et partiellement transformés en empois ne réduisent pas du tout le liquide de Haines.

∴

Nouvel essai, toujours sur matériaux fixés par l'alcool absolu.

J'ajoute de l'iode à 1 °/₀, jusqu'à coloration brun foncé des grains. Lavage à l'eau : les grains prennent une teinte noir un peu violacé. A froid, par l'acide sulfurique dilué de son volume d'eau, ils gonflent et deviennent violet pâle; c'est moins beau que par l'acide sulfurique concentré. Puis ils forment dans la cellule un empois qui, après lavage et traitement par l'iode dans l'iodure de potassium, devient violet vineux. L'addition d'alcalis rend la teinte d'un beau violet et gonfle le filament; puis, par un excès de réactif, le filament se décolore complètement. Le même filament, qui a donc reçu l'acide sulfurique dilué de son volume d'eau, est traité par le liquide de Haines, avec courte ébullition : aucune réduction.

∴

Nouvel essai, même matériel.

J'ajoute de l'iode à 1 °/₀, jusqu'à coloration brun foncé des grains. Pas lavé. J'ajoute au bord de la lamelle de l'acide sulfurique concentré, en présence, par conséquent, d'un excès d'iode dans l'iodure de potassium : il y a précipitation d'iode dans le liquide (un excès d'eau le redissout) et les filaments de *Beggiatoa*, y compris leurs grains, deviennent rouge brun; les grains gonflent. (Il vaut donc mieux laver avant d'ajouter l'acide sulfurique). Si ensuite on enlève, par un lavage à l'eau, l'excès d'iode et d'acide sulfurique, les filaments deviennent jaune intense, mais on ne voit plus rien des grains, pas même sous forme d'empois; car une réaddition d'iode ne montre aucune coloration d'empois. Donc l'acide sulfurique a maintenant dissous les grains d'une façon complète. J'ajoute maintenant du liquide de Haines, jusqu'à décoloration complète de ces filaments et gonflement; je chauffe presque jusqu'à l'ébullition (pour ne pas désorganiser tout à fait les filaments et les rendre méconnaissables) : aucune réduction. Probablement, les produits de dédoublement du « paraglycogène » ont été enlevés par l'acide sulfurique.

∴

Même matériel, privé de soufre par le séjour dans l'alcool.

Je laisse évaporer l'alcool ; je traite par ma salive pendant quatre heures, à la température de 20°. Puis j'ajoute l'iode à 1 °/₀ dans l'iodure de potassium en grande quantité : les grains de « paraglycogène » de *Beggiotoa* semblent diminués de volume et ne se colorent presque plus, tout au plus en violet sale peu marqué. Dans la même préparation, les Nématodes, qui donnaient une forte réaction de glycogène, ne se colorent plus qu'en jaune à peine brunâtre. En revanche, il y a dans ma salive des cellules épithéliales, en petit nombre, qui contiennent du glycogène et qui l'ont con-

servé malgré les quatre heures de séjour dans la salive : elles sont probablement vivantes. Dans l'un des filaments de *Beggiatoa*, certaines cellules renferment maintenant une sorte d'empois, qui devient rose sale par l'iode à 1 °/₀. Je traite tous ces filaments par le liquide de Haines : ils se décolorent et gonflent. Je porte à l'ébullition : aucune trace d'oxydule ni dans les *Beggiatoa*, ni dans le liquide, ni dans les Anguillules (celles-ci ont une belle coloration lilas : réaction des matières albuminoïdes). Après une ébullition un peu plus prolongée, j'ai beaucoup de peine à trouver dans la préparation quelques lambeaux de *Beggiatoa*, mais ils n'offrent aucune réduction, pas plus que les Anguillules et le liquide ambiant.

∴

Autre essai semblable.

Après cinq heures d'action de la salive, à 20°, j'ajoute l'iode à 1 °/₀ : plus aucune réaction brune dans les *Beggiotoa* et dans les Anguillules. Les cellules de la salive (vivantes?) ont encore leur glycogène.

∴

Matériel frais, vivant, en culture depuis longtemps.

Les *Beggiatoa* contiennent beaucoup de soufre et de grains de « paraglycogène ». Je les traite par l'iode jusqu'à coloration des grains de « paraglycogène » en brun noir. Je lave à l'eau. J'ajoute une goutte d'acide sulfurique concentré. Les filaments deviennent jaune intense (par mise en liberté d'iode), les grains de soufre ne se dissolvent ni ne gonflent; dans plusieurs cellules, le protoplasme se sépare nettement de la membrane; il y a un précipité d'iode dans le liquide. *Les grains de soufre se colorent lentement, mais incontestablement en brun rosé, comme s'ils dissolvaient un peu d'iode ou s'y combinaient.* Cela n'a lieu qu'en présence d'acide sulfurique assez concentré; peut-être faut-il que l'iode soit mis en liberté à l'état naissant par l'acide. Les grains de « paraglycogène »

gonflent, se colorent en violet pâle, puis finissent par se décolorer et disparaître (probablement par dissolution). Après chauffage modéré de cette préparation, les grains de soufre sont plus fortement colorés par l'iode, en brun. Je lave à l'eau, je traite par le liquide de Haines, et je porte à l'ébullition. Le contenu cellulaire des *Beggiatoa* devient bleu pâle (pas violacé) [sucre non réducteur?]; il n'y a pas de précipité d'oxydule; les grains de soufre restent visibles et décolorés. Par l'iode seul, même en chauffant jusqu'à l'ébullition, les grains de soufre ne se colorent pas.

***

Matériaux fixés dans l'alcool absolu.

J'ajoute de l'iode dans l'iodure de potassium, et j'obtiens ici une coloration brun violacé des grains de « paraglycogène » par ce réactif seul; la coloration est même presque violet noirâtre. Ces filaments sont aussi remarquables par la petitesse de leurs grains de « paraglycogène ». Un excès d'iode ne fait pas virer cette couleur. J'ajoute maintenant de la potasse : le tout se décolore, les filaments gonflent, leur protoplasme reste net et granuleux, leurs grains de paraglycogène également. Je lave. J'ajoute de l'iode : les grains deviennent nettement lilas. Par addition ultérieure d'acide sulfurique à cette même préparation, les filaments et leurs grains prennent une teinte rouge : il y a précipitation d'iode. (*N. B.* J'aurais dû laver d'abord l'excès d'iode.)

***

Même matériel.

Par l'α-naphtol et l'acide sulfurique concentré ou étendu de moitié d'eau, aucune réaction violacée, ni tout de suite, ni après une demi-heure, ni après quatre heures.

*
* *

Matériel frais.

Je fais bouillir trois quarts d'heure dans l'autoclave à 3 atmosphères, avec du liquide de Haines : aucun précipité dans les filaments de *Beggiatoa;* mais le contenu des filaments a pris une teinte jaune incontestable, tout à fait celle qui répond aux premières traces de réduction. Dans ces mêmes filaments, on trouve les enveloppes (Hüllen) gonflées des grains de « paraglycogène »; leur contenu se colore d'une façon uniforme en violet ou brun violet par l'iode dans l'iodure de potassium : très net. Dans les mêmes conditions, une tranche de Pomme de terre, présente une certaine réduction d'oxydule à la surface des cellules; il est vrai que, même après un séjour de trois heures à 3 atmosphères dans le liquide de Haines, la plus grande partie de l'amidon de la Pomme de terre est encore non modifiée.

Il semble donc bien que pour le « paraglycogène » comme pour l'amidon, nous ayons obtenu ainsi un commencement de réduction du réactif cupro-potassique et un gonflement de la plus grande partie du « paraglycogène », formant désormais un empois qui persiste dans la cellule, sans diffuser au dehors.

Les enveloppes des grains de « paraglycogène » tout à fait analogues à celles des grains d'amidon, vides, ne se colorent pas par l'iode. Il n'y a pas de doute sur ce qui précède, car j'ai trouvé un petit nombre de ces grains gonflés, dont le contenu était resté en place et se colorait en brun violet, tandis que l'enveloppe du grain, relativement épaisse, restait incolore et assez brillante.

VIII. **Pinaciophora fluviatilis** Greeff, provenant d'une mare située dans les dunes de Coxyde. 19 septembre 1900.

Chez cet Héliozoaire, la partie centrale, granuleuse (endoplasme et noyau), est entourée d'une couche assez épaisse (ectoplasme) remplie de grains arrondis, réfringents, incolores, se colorant en brun-acajou foncé par l'iode en solution à 1 °/₀; ces grains deviennent nettement jaunes à chaud et reprennent très

rapidement leur teinte primitive par le refroidissement. *Très net.* Il y a donc probablement des grains de paraglycogène. (Voir mon dessin.) Delage et Hérouard (*La Cellule et les Protozoaires*, p. 167) indiquent chez *Acanthocystis*, voisin de *Pinaciophora*, des grains d'amidon. Il se pourrait bien que ce fût, comme ici, du paraglycogène.

IX. **Stenocephalus Juli** Leidy, dans le tube digestif de *Julus punctatus* Leach, à Coxyde, en août 1900.

Cette Grégarine est formée à l'état libre (comme « sporadin »), de deux portions : un petit *protomérite*, qui n'a pas de noyau, et un grand *deutomérite*, qui a un noyau.

Par l'iode, on voit dans les deux portions, chez les individus très jeunes, un protoplasme qui se colore en jaune et des granules qui se colorent en brun (paraglycogène de Bütschli [1]); ces granules sont plus abondants dans le deutomérite que dans le protomérite. (Voir mes dessins, fig. 1.) Chez les Grégarines plus âgées, ces granules diminuent de plus en plus dans le protomérite, et il n'en reste plus que dans le deutomérite. Toutefois, dans le protomérite, où il n'y a plus ni réaction protoplasmique jaune ni réaction brune, il y a un grand nombre de granules assez gros, réfringents, qui sont incolores et le demeurent après l'action de l'iode. Les grains de paraglycogène se colorent tantôt en jaune brun foncé (fig. 2), tantôt en brun pur (fig. 3). A l'extrémité postérieure du deutomérite, la membrane présente une portion plus amincie (fig. 2 et 3), où les échanges se font sans doute plus facilement.

[1] Le terme de « paraglycogène » a été créé par Bütschli, dans *Zeitschr. f. Biologie*, t. XXI, 1885, pp. 602-612.

A consulter aussi, sur les Grégarines et sur le paraglycogène : Delage et Hérouard, *La Cellule et les Protozoaires*, pp. 254 et suiv.; Bütschli, *Protozoa*, 1888, t. I, pp. 503 et suiv., et t. III, pp. 1469 et suiv.; Aimé Schneider, *Contribution à l'histoire des Grégarines de Paris et de Roscoff*, dans Arch. de zool. expérim., 1875, t. IV, pp. 493-604; L. Léger, *Le genre Eimeria et la classification des Coccidies*, dans Comptes rendus Soc. biol., 16 juin 1900.

Dans certains cas, j'ai vu le deutomérite contenir beaucoup de grains, mais qui ne se colorent pas par l'iode, ou du moins qui deviennent jaunes : ce sont probablement des grains protoplasmiques.

La membrane du deutomérite est finement striée longitudinalement, ce que je n'ai pas indiqué dans mes dessins.

Il n'est pas rare que dans des stades semblables à ceux de mes figures 2 et 3, tous ou presque tous les grains colorables par l'iode soient réunis d'un côté de la cellule; le reste du contenu du deutomérite prend la coloration jaune protoplasmique; le contenu du protomérite ne se colore pas.

X. **Amoebidium parasiticum** Cienkowski, abondant sur *Daphnia pulex* de Geer et sur *D. magna* Straus, dans l'abreuvoir de la ferme « De Groote Kwinte », à Coxyde, en août 1900.

Ce parasite est formé de longues cellules cylindriques, dont le contenu se divise en un certain nombre (variable de 4 à 8) de sporablastes fusiformes, qui se divisent en un certain nombre d'amibes, lesquelles s'enkystent et sporulent : chacune donne 5 ou 6 sporozoïtes, qui se fixent et deviennent de nouveaux tubes cylindriques [1].

Le contenu, d'abord uninucléé et assez uniformément granuleux, de la longue cellule renferme à une autre phase plusieurs noyaux espacés, le contenu demeurant assez uniforme. (Voir mes dessins, fig. 1 et 2.) Puis se différencie de plus en plus nettement une couche pariétale de protoplasme granuleux qui présente des trabécules transverses. Les divers noyaux sont ainsi séparés les uns des autres par une rangée de vacuoles. Cela est bien visible. A une phase, probablement plus avancée, on voit des rangées obliques de granules séparant des espaces clairs (vacuoles). Enfin, toute la masse se partage en un certain nombre de sporoblastes fusiformes.

Par l'iode dans l'iodure de potassium, on n'obtient, dans certains

---

[1] Voir Delage et Hérouard, *La Cellule et les Protozoaires*, p. 298.

cas, qu'une réaction jaune pâle, les noyaux étant seulement d'un jaune un peu plus doré et les vacuoles ne renfermant rien de colorable.

D'autres fois, dans des états présentant le même aspect, les vacuoles se montrent remplies de granules, qui deviennent nettement brun acajou par l'iode (réaction de paraglycogène). Ces amas bruns sont séparés par des espaces clairs, qui se colorent en jaune : c'est l'endroit où se trouve seulement le protoplasme, très probablement avec un noyau chaque fois. (Voir fig. 4.) Il y a aussi dans le protoplasme d'autres granules, se colorant seulement en jaune par l'iode.

Les grains colorables en brun par l'iode que j'ai observés dans les *Amoebidium* sur des Daphnies tout fraîchement récoltées ont très vite disparu de la culture dans l'eau propre, pauvre en matières nutritives, où cependant Daphnies et *Amoebidium* étaient vivants et, en apparence, bien portants. Dans les exemplaires fixés par l'alcool absolu au moment de la récolte, les grains colorables se retrouvent; et, ici, on voit nettement que les espaces clairs entre les amas de grains (fig. 4) renferment chacun un noyau avec nucléole.

Les grains en question se colorent par l'iode en un brun qui ressemble beaucoup à celui du glycogène. J'ai l'impression que leur coloration réclame une proportion plus forte d'iode que ne le fait le glycogène. En faisant la coloration avec une solution modérément concentrée d'iode (renfermant environ 0.6 °/₀ d'iode), on obtient une coloration brune nette des grains; ils se décolorent parfaitement à chaud et reprennent par le refroidissement la teinte primitive. Cela est très net.

En ajoutant progressivement à la préparation colorée par l'iode de la potasse à 10 °/₀ environ, les grains se décolorent d'abord, conservent assez longtemps leurs contours, puis quand la concentration du liquide ambiant en potasse a augmenté suffisamment, ils gonflent et leurs contours disparaissent. Leur masse constitue alors une substance homogène réfringente, rappelant l'épiplasme des Ascomycètes. En lavant complètement à l'eau, au besoin légèrement acidulée, et traitant de nouveau par l'iode, on obtient aux



endroits où s'étaient trouvés les grains une coloration brune à peu près aussi forte qu'avant, mais plus diffuse. Les grains n'ont donc pas été dissous, mais ont formé seulement une sorte d'empois, et leur état comme leur réaction rappellent tout à fait maintenant le glycogène ordinaire.

27 août 1900. — Examiné cet après-midi des *Amoebidium* récoltés ce matin dans l'abreuvoir de la « Groote Kwinte », et conservés depuis lors dans un cristallisoir rempli de l'eau même de l'abreuvoir.

Les *Amoebidium* sur *Daphnia magna* présentent en nombre variable des grains colorables en brun par l'iode. Pas de doute qu'il s'agisse ici de grains assez gros, arrondis.

Dans un exemplaire à peu près adulte (fig. 5), après traitement par l'iode à 1 °/₀, j'observe :

1° Une membrane d'enveloppe qui se termine vers le bas par une sorte d'épatement servant à l'attacher.

2° Un cytoplasme qui se colore en jaune, tapisse la surface interne de la membrane et renferme de petits granules se colorant également en jaune.

3° Des granules un peu plus gros et très réfringents, ne se colorant pas sensiblement par l'iode, se colorant en revanche nettement *intra vitam* par une solution très diluée de bleu de méthylène ($^1/_{20000}$). Ce sont les « rothe Körner » de Bütschli[1], les « Bütschlische Kugeln » de Lauterborn[2]. On peut les nommer grains de Bütschli. Ils se trouvent dans le cytoplasme pariétal et dans les trabécules cytoplasmiques qui traversent la cellule.

4° Quatre noyaux se colorant en jaune plus doré que le cytoplasme. Après dessiccation ou après traitement par l'alcool, un nucléole fort net y apparaît.

---

[1] Bütschli, *Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen.* Leipzig und Heidelberg, 1890,

[2] Lauterborn, *Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen*, p. 30. Leipzig, 1895.

5° Dans l'axe de la cellule, un certain nombre de granules assez gros, bien distincts, de dimension variable, devenant brun-acajou par l'iode. A de faibles grossissements, on croit voir dans certaines cellules une substance homogène, diffuse, brun-acajou; mais à un grossissement suffisant et avec un bon éclairage, j'ai toujours pu m'assurer que cette coloration siégeait dans les granules indiqués ci-dessus. Ces granules se décolorent à chaud et reprennent leur teinte par le refroidissement, sans que celle-ci devienne plus violacée. Je les désigne comme granules de paraglycogène.

En écrasant la préparation, on voit que les granules de paraglycogène s'aplatissent dans la cellule, prennent des contours tout à fait irréguliers et indécis, tandis que noyaux et grains de Bütschli conservent des contours très nets. Ils sont donc formés d'une substance molle, mais l'écrasement ne suffit pas toutefois à les transformer en un empois véritable. L'écrasement fait apparaître nettement un nucléole asssez gros dans chacun des quatre noyaux. Je l'ai indiqué dans ma figure 5.

28 août 1900. — Il y a ce matin dans la culture un grand nombre de petits éléments qui ont tout l'air d'être des *amibes* d'*Amoebidium*, à contours tantôt amiboïde, tantôt pyriforme [1]. J'y vois un noyau en tout semblable à ceux d'*Amoebidium*; l'iode y produit une coloration purement jaune.

29 août 1900, à 18 heures. — Comparé les *Amoebidium* sur *Daphnia pulex* mises depuis le 27 dans l'*eau* pure, et par conséquent peu favorisés au point de vue d'une nutrition saprophytique, — et ceux (aussi sur *D. pulex*) conservés depuis le même moment, dans les mêmes conditions externes, dans un tube tout semblable, avec le liquide primitif de l'abreuvoir, riche en matières organiques. De part et d'autre, je ne constate guère de réaction de paraglycogène; beaucoup d'*Amoebidium* forment leurs sporoblastes, lesquels ne prennent aussi qu'une coloration jaune par l'iode.

[1] Voir Delage et Hérouard, *loc. cit.*, p. 298, fig. 464, f.

30 août 1900, à 10 heures. — Presque tous les individus de la culture *eau* donnent une forte réaction de granules de paraglycogène; quelques individus forment leurs sporoblastes, et l'un d'eux, particulièrement gros, contient un grand nombre de sporoblastes riches en granules de paraglycogène.

Il y a dans la préparation beaucoup de corps ayant l'air d'amibes d'*Amoebidium*. (Voir les observations du 28 août.)

Sous l'action de l'acide sulfurique concentré, la coloration par l'iode des *Amoebidium* se fonce d'abord, puis pâlit, sans qu'à aucun moment je n'aie constaté de coloration bleue, cellulosique.

Dans la culture en *liquide de l'abreuvoir*, il y a relativement peu d'*Amoebidium* sur les Daphnies, probablement parce que beaucoup de celles-ci ont mué assez récemment. Mais dans tous ceux que je trouve, et qui malgré tout sont en nombre respectable, l'iode, même en quantité plus grande que pour l'autre culture, ne produit qu'une coloration jaune. Seuls, un ou deux filaments remplis de sporoblastes prennent une légère teinte brune. Dans cette préparation, je ne vois pas d'amibes d'*Amoebidium*.

31 août 1900, à 10 heures. — Réexaminé les deux cultures de Daphnies avec *Amoebidium*. Dans la culture *eau*, les Daphnies sont bien portantes pour la plupart; un certain nombre ont mué. Il est vrai que Massart a ajouté à cette culture, depuis deux jours, quelques filaments d'Algues qui améliorent ici les conditions d'oxygénation. Les *Amoebidium* contiennent peu ou point de paraglycogène. Quelques exemplaires forment leurs sporoblastes. Dans la préparation, il y a une quantité modérée de ces corps, qui semblent être les amibes d'*Amoebidium*.

Dans la culture en *liquide de l'abreuvoir*, beaucoup de Daphnies sont mortes, mais il en reste beaucoup de très vivantes et agiles. Un grand nombre ont mué. Il n'y a pas eu ici d'Algues vertes ajoutées. La plupart des *Amoebidium* — il y en a à divers stades — contiennent un peu de paraglycogène.

Par l'iode mélangé à de l'acide sulfurique, les *Amoebidium* ne présentent aucune réaction de cellulose, alors que les Spirogyres et d'autres cellules végétales de la même préparation se colorent en bleu.

15 septembre 1900. — Expulsion de la matière paraglycogénique. — Tués par l'iode, puis conservés pendant trois heures dans l'alcool absolu, puis lavés et traités de nouveau par l'iode à 1 °/₀₀ les *Amoebidium* (sur *Daphnia magna*) m'ont présenté un phénomène remarquable : beaucoup de cellules ont expulsé tout ou partie de leur matière colorable par l'iode, qui se retrouve alors, n'étant pas diffusible, entre le protoplasme rétracté et la membrane, sous forme de masses bien délimitées, quelquefois très volumineuses (voir mes dessins). Ces masses gonflent et disparaissent dans la potasse.

28 janvier 1901, à Bruxelles. — Amoebidium de Coxyde, fixés par l'alcool absolu. Les grains de paraglycogène s'y retrouvent, colorables en brun par l'iode, mais souvent plus ou moins confluents par leurs bords. De plus, le cytoplasme pariétal, rétracté par l'alcool, présente aussi, dans la plupart des individus, une coloration brune — et non jaune — par l'iode.

Par un traitement subséquent avec la potasse, les grains de paraglycogène se décolorent, mais ne gonflent pas sensiblement. Ceci est à vérifier.

Voici les propriétés indiquées par Bütschli [1] pour le paraglycogène des Grégarines :

Par la *teinture d'iode*, les grains prennent une coloration rouge brun à violet brun, que l'addition d'un peu d'acide sulfurique dilué de son volume d'eau transforme en rouge vineux à bleu violet.

La coloration brune disparaît quand on *chauffe* jusque près du point d'ébullition de l'eau, et revient par le refroidissement; mais par la chaleur, les grains *gonflent* comme par l'acide sulfurique, et prennent, dès lors, par le refroidissement, la teinte rouge vineux à bleu violet.

Les grains sont solubles dans l'*eau bouillante :* on peut ainsi les extraire à la longue, après pulvérisation des Grégarines, ou même sans trituration. Le *liquide filtré* est colorable en rouge vineux ou pourpré par l'iode.

[1] Bütschli, *Zeitschr. f. Biologie*, 1885, t. XXI. pp. 603 et suiv.

Le corps dissous est précipité par l'*alcool*.

Après ébullition prolongée avec l'acide sulfurique à 3 °/₀, il réduit la liqueur de *Fehling*. On peut aussi extraire le corps à l'état de sucre en faisant *cuire directement* les Grégarines avec l'acide sulfurique à 1 °/₀.

Par la *salive* à 40°, les grains sont également dissous. La salive ne transforme ni les grains primitifs, ni leur solution, en un corps réduisant la liqueur de Fehling.

Quelquefois l'ébullition avec l'acide chlorhydrique, et même l'acide sulfurique à 33 °/₀, ne transforment pas le corps en une substance réductrice.

Pas de réaction de *Millon* dans la solution aqueuse.

5 février 1901, à Bruxelles. — *Amoebidium* de Coxyde fixés par l'alcool absolu.

[Comparer la quantité d'iode nécessaire pour colorer le glycogène et le paraglycogène ; essayer la solution d'iode dans la solution d'iodure de potassium et la teinture d'iode.]

La membrane d'*Amoebidium* se colore à peine en jaune pâle par l'iode. Dans certains exemplaires, on retrouve très bien les grains de paraglycogène à l'*intérieur* du cytoplasme; ils se colorent en rouge brun par l'iode. Par l'action subséquente de l'acide sulfurique, les grains prennent une teinte *un peu* plus rouge vineux, puis gonflent un peu, présentent des contours de plus en plus indistincts, pâlissent et deviennent invisibles. Un lavage complet à l'eau et un traitement nouveau par l'iode ne font plus réapparaître les grains : ils ont bien réellement disparu, et il n'apparaît même plus aucune coloration. Toutes ces observations ont été faites sur les grains d'*une même* cellule que je n'ai pas quittée des yeux. Je lave de nouveau à l'eau et je traite par le réactif cupropotassique de Haines : le contenu de l'*Amoebidium* gonfle assez fortement de façon à remplir toute la cavité et devient légèrement, mais nettement, violet. Après ébullition, il y a dans le liquide autour des *Amoebidium* et des Daphnies quelques grains jaunes (probablement d'oxydule), mais il n'y en a pas *dans l'Amoebidium ;* ici la teinte violette a persisté et s'est même plutôt accentuée. Cette même préparation contient des Infusoires : *Epistylis branchiopyla*,

sur *Daphnia pulex*. Chez eux, l'iode produit une coloration brune liée à des masses amorphes dans le corps de l'Infusoire. C'est très probablement du glycogène; ce n'est certes *pas* du paraglycogène.

Les grains que l'iode colore dans l'*Amoebidium* pâlissent à chaud, jusqu'au jaune pur, et reprennent leur coloration rouge brun par le refoidissement, peut-être un peu plus rouge qu'avant. Après quelques chauffages courts, — sans atteindre l'ébullition, — les grains ne paraissent pas gonflés. Après ébullition, au contraire, les grains sont gonflés, ont perdu leurs contours et forment un amas amorphe, d'ailleurs encore coloré en rouge brun après le refroidissement et analogue à l'épiplasme des Ascomycètes (à comparer avec l'action de la potasse, page 361).

Après tout ceci, j'ajoute l'acide sulfurique : la coloration devient *un peu* plus rougeâtre, de même d'ailleurs que celle du glycogène des tissus de la Daphnie, puis elle disparaît. Mais une nouvelle addition d'iode la fait réapparaître. Je n'avais laissé agir l'acide, assez peu concentré, que pendant quelques instants.

8 février 1901. — En mettant côte à côte dans la même préparation des *Polyphagus Euglenae*, qui renferment beaucoup de glycogène, et des *Amoebidium*, qui renferment du paraglycogène, on voit que les deux se colorent à peu près simultanément par l'afflux progressif d'iode, le paraglycogène peut-être un peu plus tardivement : par de très petites quantités d'iode, le glycogène se colore déjà en jaune et en jaune brun, tandis que le paraglycogène m'a paru présenter une très légère coloration *brun violet*. A vérifier.

Après ébullition dans le liquide cupro-potassique de Haines (qui n'a amené la formation d'oxydule, ni dans les *Amoebidium*, ni dans les *Polyphagus*) et lavage, le glycogène de *Polyphagus* continue à se colorer en brun et jaune brun, même par les plus petites quantités d'iode, tandis que le paraglycogène d'*Amoebidium* se colore en violacé par de *très petites* quantités d'iode; un peu davantage le colore en brun. A vérifier encore.

LISTE SYSTÉMATIQUE

des organismes dans lesquels M. L. Errera a recherché le glycogène ou le paraglycogène, dressée d'après ses notes manuscrites et d'après ses publications.

(o = Ni glycogène, ni paraglycogène. Les indications de pages qui accompagnent les noms de beaucoup d'espèces renvoient aux pages de ce volume du *Recueil* où il est question de ces espèces. Pour plusieurs espèces, les observations consignées dans les notes manuscrites corrigent celles qui avaient été publiées.) J. M.

SCHIZOPHYTES.

Schizomycètes.

Spirochaete plicatilis Ehrenb	o
Beggiatoa arachnoidea Agardh	o
— *major* Winogradsky	Paraglycogène ?
— *sp. (B. pigra)*	Paraglycogène, p. 351.
Thiocystis violacea Winogradsky	Glycogène? p. 350.
Chromatium sp. (de Coxyde)	o
Thiospirillum sp. (de Coxyde)	o
— (de Bergh)	o

Schizophycées.

Merismopedia elegans A. Braun	Glyc. ou paraglyc p. 347.
— *glauca* Nägeli	Id. p. 347.
Oscillatoria formosa Bory	Glycogène. p. oo.
— *sp.* (de Bergh)	Id.
— *sp.* (de Nieuport)	Id.
Spirulina major Kützing	o

SPOROZOAIRES.

Stenocephalus Juli Leidy . . . . Paraglycogène, p. 359.
? *Amoebidium parasiticum* Cienkowsky . . . . . Id. p. 360.

RHIZOPODES.

Amœbiens.

GYMNAMŒBIENS.

Amoeba limicola . . . . o
— *sp.* (de Nieuport) . . . . o
— *sp.* (de Nauheim) . . . . Glycogène.

THÉCAMŒBIENS.

Arcella vulgaris Ehrenb. . . . . o

Foraminifères.

Polystomella sp. (de Nieuport) . . . . Glycogène.
Globigerina sp. (de Nieuport) . . . . Id.

Héliozoaires.

Actinosphaerium Eichhornii Ehrenb. . . . . o
Acanthocystis sp. (de Nieuport). . . . . o
Pinaciophora lacustris. . . . . Paraglycogène? p. 358.

MYXOMYCÈTES.

Acrasiées.

Dictyostelium mucoroides Brefeld. (Plasmode, spores jeunes). . . . . Glycogène.

Phytomyxinées.

Plasmodiophora Brassicae Woron. (Plasmode, spores jeunes). . . . . Glycogène.

Myxogastérées.

Lycogala epidendrum Buxb. (Plasmode) . . . . . Glycogène.
Reticularia umbrina Fries (Plasmode). . . . . . . Id.

Stemonitis fusca Roth (Plasmode, spores jeunes) . .	Glycogène.
Brefeldia maxima Fries (Plasmode)	Id.
Chondrioderma difforme Pers. (Plasmode).	Id.
Fuligo septica L. (Plasmode)	Id. p. 21.

INFUSOIRES.

Epistylis branchiopyla Perty	Glycogène? p. 366.
Colpoda cucullus Ehr.	Glycogène.

FLAGELLATES.

Euflagellates.

Oxyrrhis marina Dujardin	Paraglycogène, p. 348.
Colacium vesiculosum Stein	Glycogène? p. 349.
Euglena Ehrenbergii Klebs	o, p. 350.
Chromulina ovalis Klebs	o, p. 350.

Cystoflagellates.

Noctiluca miliaris	o, p. 350.

Dinoflagellates.

Gymnodinium sp. (de Nieuport).	Glycogène?

FLORIDÉES.

Lemanea annulata Kütz	Substance ressemblant au glycogène, p. 30.

PHANÉROGAMES.

Linum usitatissimum L.	Substance ressemblant au glycogène, p. 32.
Mahonia repens G. Don.	Substance ressemblant au glycogène-dextrine, p. 34.
Solanum tuberosum L.	Substance ressemblant à l'achroo-glycogène, p. 35.

CHAMPIGNONS.

Phycomycètes.

Chytridiales.

Chytridiacées.

Synchytrium Taraxaci De Bary et Woronin (Sporange). Glycogène?
Pycnochytrium Anemones Schröt. (Chlamydospores) . Id.
— *Mercurialis* Schröt. (Chlamydospores). Id.
Cladochytrium Hippuridis (Chlamydospores). . . . Id
Polyphagus Euglenae Nowakowski (jeunes zygospores). Glycogène, p. 367.

Ancylistacées.

Ancylistes Closterii Pfitzer (Mycélium) . . . . . Glycogène.

Oomycétales.

Saprolégniacées.

Saprolegnia Thureti De Bary . . . . Pas de glycogène?
Achlya polyandra Hildebr. . . . . Id.
Aphanomyces phycophilus De Bary . . . . Id.

Péronosporacées.

Albugo candida O. Kuntze (Mycélium, conidies). . . Glycogène.
Phytophtora infestans De Bary (Mycélium, conidies) . Glycogène?
— *omnivora* De Bary (Mycélium, conidies) . Id.
Bremia Lactucae Regel (Mycélium, conidies) . . . Glycogène.
Peronospora effusa Rabenhorst (Mycélium, conidies) . Id.
— *arborescens* De Bary (Mycélium, conidies). Id.

Zygomycétales.

Mucoracées.

Mucor Mucedo L. (Mycélium) . . . . Glycogène.
— *racemosus* Fresenius (Mycélium, chlamydospores). . . . . Id.
Mucor stolonifer Ehrenberg (Mycélium) . . . . . Id. p. 73.
Phycomyces nitens Kunze et Schmidt (Mycélium) . . Id. p. 71.

Sporodinia grandis Link (Mycélium, sporanges, zygotes, spores). . . . . Glycogène.
Thamnidium elegans Link (Sporangioles) . . . . . Id.
Pilaira Cesatii Van Tieghem (Mycélium) . . . . . Id. p. 75.
Pilobolus crystallinus Tode (base du sporangiophore, spores). . . . . Id. pp. 23, 71.
Pilobolus oedipus Montagne (base du sporangiophore) . Id.
— *Kleinii (?)* Van Tieghem (Mycélium) . . . Id. p. 74.
Mortierella polycephala Coemans (Sporangiophore) . . Id.
Chaetocladium Jonesii Fresenius (Mycélium, sporangiophores, spores) . . . . Id. p. 75.
Piptocephalis Freseniana De Bary (Mycélium, sporangiophores, spores) . . . . Id. p. 75.
Syncephalis nodosa Van Tieghem (Mycélium, sporangiophores, spores) . . . . Id. p. 75.
Syncephalis minima Van Tieghem (Mycélium, sporangiophores, spores) . . . . Id. p. 75.

Entomophthoracées.

Completoria complens Lohde (Mycélium) . . . . . Glycogène.

Ascomycètes.

HÉMIASCALES.

Protomyces macrosporus Unger (Sporange) . . . . Glycogène.

PROTOASCALES.

Saccharomyces cerevisiae Meyen . . . . Glycogène, pp. 25, 125.
— *glutinis* F. Cohn. . . . . Id.

PROTODISCALES.

Exoascus deformans Fuckel (Asques) . . . . . . Glycogène.
Taphria aurea Fries (Asques) . . . . Id.

DISCOMYCÉTALES.

Helvellacées.

Mitrula paludosa Sacc. (Tissus, asques) . . . . . Glycogène.
Geoglossum hirsutum Pers. (Tissus, asques) . . . . Id.
— *difforme* Fries (Asques) . . . . . . Id.

Morchella esculenta Pers. (Asques)	Glycogène.	
Verpa rufipes (Tissus, asques)	Id.	
Rhizina inflata Sacc. (Tissus, asques)	Id.	

Pézizazées.

Pyronema confluens (Ascogones, asques)	Glycogène.	
Peziza ascophanoides (Asques)	Id.	
— *aurantia* Müll. (Tissus, asques)	Id.	
— *badia* Pers. (Tissus, asques)	Id.	
— *cupularis* L. (Tissus, asques)	Id	
— *granulata* Bull. (Tissus, asques)	o? p. 9.	
— *leucoloma* (Asques)	Glycogène.	
— *orthotricha* (Asques)	Id.	
— *pitya* Persoon	o? p. 9.	
— *pustulata* Pers. (Tissus, asques)	Glycogène.	
— *sclerotiorum* (Tissus, asques)	Id.	p. 9.
— — (Sclérotes)	Id.	p. 130.
— *succosa* Berk. (Tissus, asques)	Id.	
— *umbrina* (Tissus, asques)	Id.	
— *venosa* Pers. (Asques)	Id.	
— *vesiculosa* Bull. (Tissus, asques, spores jeunes)	Id.	pp. 9, 13.
Ascophanus ochraceus Boud. (Tissus, asques)	Id.	p. 8.
Ascobolus aerugineus (Tissus, asques)	Id.	
— *furfuraceus* Pers. (Tissus, asques)	Id.	p. 8.
— *immersus* Pers. (Tissus, asques)	Id.	
— *pilosus*, var. *ciliatus* (Tissus, asques)	Id.	
Sclerotinia tuberosa (Sclérote)	Id.	
— *Fuckeliana* De Bary (Sclérote)	Id.	
Lachnum virgineum Karst. (Asques)	Id.	
Bulgaria inquinans Fr. (Asques)	Id.	

Phacidiacées.

Schizothyrium Ptarmicae Desm. (Asques)	Glycogène.
Rhytisma acerinum Fries (Conidiophores)	Id.

Hystériacées.

Lophodermium Pinastri Chevallier (Asques)	Glycogène.

Tubérales.

Tuber aestivum Vitt. (Asques)	Glycogène,	pp. 5, 18.
— *melanosporum* Vitt. (Asques).	Id.	pp. 5, 17.
— *Magnatum* Pico (Tissus, asques)	Id.	p. 8.
— *excavatum* (Tissus, asques)	Id.	p. 8.

Plectascales.

Aspergillus (Eurotium) herbariorum Wiggers (Conidiophores, ascogones jeunes).	Glycogène.	
Aspergillus (Eurotium) sp. (Mycélium, conidiophores).	Id.	
Sterigmatocystis niger (Stérigmates).	Id.	
Penicillium glaucum Link (Mycélium, stérigmates) . .	Id.	
Elaphomyces anthracinus Vitt. (Tissus)	Id.	p. 9.
— *granulatus* Fries	o? p. 9.	
Hydnobolites cerebriformis Tul. (Tissus, asques) . .	Glycogène.	

Pyrénomycétales.

Périsporiacées.

Sphaerotheca Castagnei Lév. (Oïdies)	Glycogène.	
Uncinula spiralis Berk. et Curt. (Oïdies)	Id.	
Kickxella alabastrina Coemans (Mycélium, sporogones, spores jeunes)	Id.	

Hypocréacées.

Hypomyces chrysospermus Tul. (stade *Sepedonium*) . .	Glycogène.	
Cordyceps militaris Link (Périthèces)	Id.	
— *ophioglossoides* Link (Asques)	Id.	
— *capitata* Link (Parties souterraines) . . .	Id.	
Claviceps purpurea Tul. (Périthèces)	Id.	
— — (Sclérotes)	Id.	p. 131.

Dothidéacées.

Phyllachora sp. (*Ph. graminis* Frick?) (Asques) . . .	Glycogène.	

Sphériacées.

Chaetomium comatum Tode (Asques)	Glycogène.	
Sordaria fimicola Ces. et de Not. (Asques)	Id.	

Sordaria fimiseda Ces. et de Not. (Tissus)	Glycogène.
— *curvula* (Asques)	Id.
Xylaria polymorpha Grav. (Périthèces)	Id.
— *pedunculata* Fries (Tissus)	Id.

Laboulbéniales.

Stigmatomyces Muscae (Périthèce et appendice) . . .	Glycogène, p. 344.

Ascolichens.

Peltigera canina Hoffm. (Tissus et asques)	Glycogène?
Collema sp. (Tissus)	o.
Leconora esculenta (Spermogonies)	Glycogène?
— *lentigera* Ach. (Apothécies jeunes)	Id.

Basidiomycètes.

Ustilaginales.

Ustilago Carbo Tul. (Jeunes spores et formes-levures) .	Glycogène.
— *violacea* Tul. (Formes-levures)	Id.
— *olivacea* Tul. (Formes-levures)	Id.
— *Vaillantii* Tul. (Jeunes spores)	Glycogène?
Urocystis Colchici Rabenhorst (Jeunes spores) . . .	o.

Protobasidiales.

Urédinacées.

Gymnosporangium clavariaeforme Rees. (Filaments promycéliens)	Glycogène.
Puccinia graminis Pers. (Spermogonies adultes et écidies jeunes)	Glycogène ?
Puccinia Rubigo-vera Wint. (Urédospores)	Glycogène.
— *fusca* Relhan (Assise subhyméniale) . . .	Id.
Æcidium leucospermum DC. (Écidie jeune et écidiospores jeunes)	Id.

Trémellacées.

Tremella mesenterica Retz (Tissus jeunes)	Glycogène, pp. 76, 93.
— *albida* Huds. (Basides)	Glycogène? p. 93.
— *torta* Berk. (Basides)	Id. p. 93.

AUTOBASIDIALES.

Exobasidiacées.

Exobasidium Vaccinii Woronin (Basides) . . . . . Glycogène? p. 93.

Théléphoracées.

Stereum purpureum Pers. (Partout) . . . . . . Glycogène, p. 92.
— *hirsutum* Fr. (Partout). . . . . Glycogène? p. 92.
Solenia anomala Friek (Basides jeunes) . . . . . Glycogène.

Clavariacées.

Clavaria rugosa Bull. (Hyménium et spores jeunes) . Glycogène, p. 92.
— *cristata* Pers. (Hyménium) . . . . . . Glycogène?
— *falcata* Pers. (Hyménium) . . . . . . Id.
— *pistillaris* L. (Hyménium). . . . . . . Id.
— *inaequalis* Müll. (Hyménium) . . . . . Glycogène.
— *Botrytis?* Pers. (Basides et spores) . . . . Id.
— *stricta* Pers. (Hyménium). . . . . . . Glycogène?

Hydnacées.

Hydnum coralloides Scop. (Partout) . . . . . . Glycogène.
— *laevigatum* Swartz (Chapeau, couche sous-hyméniale) . . . . Id.
Hydnum repandum L. (Couche sous-hyméniale). . . Id.
— *scrobiculatum* (Chapeau, lamelles) . . . . Id.
— *imbricatum* L. (Partout) . . . . Id. p. 91.
Irpex obliquus Fries (Partout) . . . . Id. p. 91.
— *sp.* (Hyménium) . . . . Id.

Polyporacées.

Polyporus fumosus Fr. (Partout.) . . . . Glycogène, p. 90.
— *giganteus* Fr. (Partout) . . . . Id. p. 90.
— *squamosus* Fr. (Partout) . . . . Id. p. 90.
— *umbellatus* Fr. (Jeune chapeau et sclérotes) . Id.
— *sulphureus* Fr. (Partout). . . . . Id. p. 89.
Trametes gibbosus (Partout) . . . . Id.
Boletus badius (Stipe, chapeau, hyménium) . . . . Id.
— *chrysentereon* Bull. (Partout) . . . . Id. p. 89.

Boletus edulis Bull. (Chapeau)	Glycogène,	p. 89.
— *felleus* Bull. (Stipe, chapeau, hyménium) . .	Id.	
— *flavus* Wilh. (Chapeau)	Id.	
— *luteus* L. (Stipe et chapeau)	Id.	
— *scaber* Fr. (Hyménium, basides)	Id.	
— *spadiceus* Schaeff (Chapeau, hyménium)	Id.	
— *subtomentosus* L. (Partout)	Id.	p. 89.
— *variegatus* Swartz (Chapeau)	Id.	
— *versipellis* Fr. (Stipe, chapeau, hyménium) . .	Id.	
— *viscidus* L. (Stipe, chapeau, hyménium). . .	Id.	

Agaricacées.

Cantharellus aurantiacus Fr. (Partout)	Glycogène.	
Coprinus comatus Fr. (Partout)	Id.	p. 88.
— *evanidus* Godey (Partout)	Id.	pp. 76, 88.
Lactarius piperatus Fr. (Partout)	Id.	pp. 89, 104.
— *subdulcis* Fr. (Partout)	Id.	
— *vellereus* Fr. (Partout)	Id.	
Russula lepida Fr. (Partout)	Id.	pp. 89, 103.
— *emetica* Fr. (Partout)	Id	p. 89.
Marasmius Oreades Fr. (Basides jeunes)	Id.	
Hypholoma fasciculare Sacc. (Partout).	Id.	p. 87.
Stropharia aeruginosa Sacc. (Hyménium)	Id.	p. 85.
— *squamosa* Sacc. (Partout)	Id.	p. 85.
Agaricus campestris L. (Cordons mycéliens, chapeau, basides)	Substance analogue aux dextrines, p. 22.	
Hebelome sp. (*H. punctatum?* Sacc.) (Stipe, hyménium).	Glycogène.	
Cortinarius alboviolaceus Fr. (Stipe)	Id.	
— *armillatus* Fr. (Stipe, hyménium) . . .	Id.	
Pholiota squarrosa Sacc. (Partout)	Id.	
Pluteus cervinus Sacc. (Partout).	Id.	
Claudopus variabilis Sacc. (Partout)	Id.	
Pleurotus ostreatus Sacc. (Partout)	Id.	p. 83.
— *salignus* Sacc. (Hyménium)	Id.	
Mycena corticola Sacc. (Partout)	Id.	
— *galericulata* Sacc. (Basides).	Id.	p. 83.
Collybia velutipes Sacc. (Partout)	Id.	pp. 83, 102.

Clitocybe laccata Sacc. (Partout)	Glycogène,	p. 83.
— *nebularis* Sacc. (Partout)	Id.	pp. 83, 101.
— *odora* Sacc. (Partout)	Id.	
Tricholoma nudum Sacc. (Partout)	Id.	p. 82.
— *portentosum* Sacc. (Stipe, hyménium)	Id.	
— *rutilans* Sacc.	o?	
— *terreum* Sacc.	Glycogène,	p. 82.
Armillaria mellea Sacc. (Partout)	Id.	pp. 82, 102.
— *mucida* Sacc. (Chapeau)	Id.	p. 82.
Lepiota procera Sacc. (Hyménium, basides)	Id	

Phallacées.

Phallus impudicus L. (Pédicelle jeune)	Glycogène,	pp. 96, 105.
— *caninus* (Pédicelle jeune)	Id.	p. 97.

Hyménogastracées.

Rhizopogon luteolus Tul.	o, p. 94.

Lycoperdacées.

Lycoperdon pyriforme Schaeff (Partout)	Glycogène.	
— *gemmatum* Batsch (Partout)	Id.	pp. 94, 105.
— *Bovista* L. jeune (Partout)	Id.	
Geaster rufescens Pers. (Tissus jeunes)	Id.	

Nidulariacées.

Crucibulum vulgare Tul. (Partout)	Glycogène, p. 94.
Cyathus striatus Hoffmann (Partout)	Glycogène? p. 94.

Sclérodermatacées.

Scleroderma vulgare Hornemann	o, p. 93.

Carpobolacées.

Sphaerobolus stellatus Tode (Fruit)	Glycogène, p. 95.

Hyphomycètes.

Pestalozzia sp. (Mycélium)	Glycogène.
Botryosporium pulchrum Corda (Mycélium)	Id.

Botrytis vulgaris Fr. (Mycélium)	Glycogène.
— *cinerea* Pers. [1] (Mycélium)	Id.
Helicomyces aureus Corda (Mycélium)	Id.
Dematium sp. (Mycélium)	Id.
Botryotrichum Sacc. et Marchal (Mycélium)	Id.
Sclerotium hydrophilum Sacc. (Mycélium)	Id.

MYCORHIZES D'ORCHIDACÉES.

Dans les racines de *Neottia Nidus-avis*	Glycogène.
Dans les racines de *Coeloglossum viride*	Id.
Dans les rhizomes de *Myrmechis gracilis*	Id.

SCLÉROTES.

Pachyma Cocos Fr.	o, p. 130.
Sclerotium stipitatum	Glycogène, p. 130.
Sclerotium niveum (de *Coprinus niveus*)	Id. p. 130.
Sclérote de *Polyporus tuberaster* (Pietra fungaia) . . .	Id.

[1] Voir aussi *Sclerotinia Fuckeliana*, p. 373.

BIBLIOGRAPHIE

DU

GLYCOGÈNE ET DU PARAGLYCOGÈNE

RÉUNIE PAR

M. le professeur Léo ERRERA

Depuis plus de vingt ans, M. Errera réunissait des renseignements bibliographiques sur les réserves hydrocarbonées, en vue d'un travail d'ensemble sur la présence et l'utilisation du glycogène et du paraglycogène chez les végétaux et les organismes inférieurs. La mort ne lui a pas permis d'exécuter son projet.

Il sera incontestablement très utile, pour ceux qui s'occuperont du glycogène et du paraglycogène dans le règne végétal, de trouver réunie et classée toute la bibliographie relative à ces substances. Les notes publiées ici comprennent toutes celles qui se rapportent sûrement au glycogène et au paraglycogène des plantes et des êtres inférieurs. Il est probable que M Errera en aurait supprimé un certain nombre lors de la rédaction de son mémoire; mais comme il nous était impossible de faire, entre ces fiches, un choix judicieux, nous avons cru préférable de les copier toutes, textuellement.

Nous avons éliminé les notes qui sont relatives au glycogène chez les animaux, celles qui s'occupent d'autres hydrates de carbone ou de matières grasses, celles dans lesquelles est signalée seulement quelque réaction iodée qui pourrait faire croire à la présence du glycogène ou d'une substance analogue, et enfin la plupart de celles qui sont déjà renseignées dans les travaux de M. Errera sur le glycogène et le paraglycogène.

Novembre 1905. J. W. C.

I. — GÉNÉRALITÉS.

(Microchimie, extraction macrochimique, rôle physiologique, etc.)

Best (D.), Ueber Glykogen, insbesondere seine Bedeutung bei Entzündung und Eiterung. (*Beitr. pathol Anat. u. allg. Pathol.*, **33**, 585 [1903]. Rés. *Zeitschr. wiss. Mikrosk.*, **20**, 35 [1904].)

Fixation dans le formol, puis l'alcool. Inclusion dans la colloïdine, pour empêcher la diffusion du glycogène dans les solutions colorantes aqueuses. L'auteur emploie plusieurs procédés de coloration :

1° « Jodmethode » : l'hématoxyline + IKI (1I : 2KI : 100 H_2O);

2° « Weigerts Fibrinmethode »;

3° « Carminfärbung ». Certaines solutions de carmin colorent le glycogène. « Die Carminfärbung ist der Jodfärbung unbedingt vorzuziehen. » Il donne des détails sur l'aspect des amas glycogéniques : les masses « semilunaires » sont un « Kunstproduct ». « Im grossen und ganzen hält Verfasser die Ansicht von Marchand für begründet, dass Glykogen nicht nur diffus im vitalen Zustande der Zelle vorkommt, sondern auch körnig und in Schollen wofür auch frische Leukozytentrockenpräparate zu sprechen scheinen. »

Biltz (W.) et Gatin-Gruzewska (Mme Z.), Observations ultramicroscopiques sur des solutions de glycogène pur. (*Comptes rendus*, 19 septembre 1904.)

Les auteurs montrent que les solutions de glycogène renferment des corpuscules de différentes grandeurs; et ils en étudient la précipitation par divers précipitants.

Bourquelot (E.), Les hydrates de carbone chez les Champignons. I. Matières sucrées. (*Bull. Soc. myc. France*, **5**, 132 [1889]; **6**, 150 [1890], **7**, 50 [1891]; **8**, 29 [1892].)

Bourquelot (E.), Les matières sucrées contenues dans les Champignons. Nouvelles recherches. (*Bull. Soc. myc. France*, **8**, 196 [1892]; **9**, 51 [1893].)

BOURQUELOT (E.), Sur la répartition des matières sucrées dans le Cèpe comestible (*Boletus edulis* Bull.) et le Cèpe orangé (*B. aurantiacus* Bull.). (*Bull. Soc. myc. France*, **8**, 13 [1892].)

BOURQUELOT (E.), Sur l'époque de l'apparence du tréhalose dans les Champignons. (*Bull. Soc. myc. France*, **9**, 11 [1893].)

BOURQUELOT (E.), Les ferments solubles de l'*Aspergillus Niger*. (*Bull. Soc. myc. France*, **9**, 230 [1893].)

BOURQUELOT (E.), Les hydrates de carbone chez les Champignons. II. Hydrates de carbone non sucrés. (*Bull. Soc. myc. France*, **10**, 133 [1894].)

Sous prétexte (p. 135) que le tréhalose est la principale matière de réserve sucrée des Champignons, l'auteur s'élève contre mon opinion que le glycogène est la forme de réserve des hydrates de carbone et la mannite leur forme de transport et conclut : « Il ne paraît donc plus possible d'admettre l'hypothèse de Léo Errera, du moins telle qu'elle a été formulée. »

CLAUTRIAU (G.), Étude chimique du glycogène chez les Champignons et les Levures. (*Mém. cour. Acad. roy. Belgique*, **53** [1895], et *Rec. Inst. bot. Bruxelles*, **1**, 201 [1905].)

CLAUTRIAU (G.), Les réserves hydrocarbonées des Thallophytes. (*Miscell. biol. Station zool. de Wimereux*. Paris, 1900, p. 114, et *Rec. Inst. bot. Bruxelles*, **1**, 301 [1905].)

CRAMER (A.), Beiträge zur Kenntniss des Glykogens. (*Zeitschr. f. Biol.*, **24**, 67 [1888]. Analysé dans *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **21**, 65 [1888].)

L'auteur confirme l'exactitude du procédé de R. Külz. Il indique les quantités de glycogène dans la plupart des organes. Il s'occupe aussi de la détermination optique de la quantité de glycogène.

CREIGHTON (C.), Microscopical researches on the formative property of glycogen. Londres, 1896-1899.

L'auteur étudie au microscope la distribution du glycogène dans les tissus d'un grand nombre d'animaux. Il se sert, pour le caractériser, uniquement de la coloration rouge vineux ou brun acajou par la solution

d'iode (I, pp. 10-14). Ordinairement, il emploie une solution de 1 grain I, 2 grains KI et 1 once d'eau, soit environ à 1/500.

« The colour reaction of glycogen with iodine (of uniform strength) is not always the same. »

Il dit que le violet de méthyle colore en rouge rubis les points glycogéniques. Mais la réaction de l'iode est généralement meilleure.

« Errera's work (II, p. 5) has been taken exception to by Wortmann, both on the ground of untrustworthy method and of erroneous views as to the physiological rôle of glycogen. »

Il ne s'aperçoit pas que la méthode microchimique indiquée par Wortmann est précisément celle que lui, Creighton, emploie exclusivement, et encore sans le contrôle d'autres réactions que celles de IKI et de l'extraction macrochimique auxquelles j'ai recouru.

Cremer (M.), Zur Kenntniss des Säureabbaues des Glykogens. (*Zeitschr. f. Biol.*, **31**, 181, Heft 2 [1894].)

Cremer (M.), Ueber die Umlagerungen der Zuckerarten unter dem Einflusse von Ferment und Zelle; ein Beitrag zur Lehre von der Glykogenie und Gärung. (*Zeitschr. f. Biologie*, **31**, 183, Heft 2 [1894].)

Cremer (M.), Ueber Hefe- und Leberzelle. (*Münchener medicin. Wochenschr.*, 1894, n° 22, et *Sitz.-Ber. Ges. f. Morphol. u. Physiol.* München, 1894, Heft 1.)

Cremer (M.), Physiologie des Glykogens. (*Ergebnisse der Physiol.*, **1**, 803 [1902].)

L'auteur s'occupe du glycogène chez les animaux inférieurs (chap. V) et chez les Levures (chap. VI).

Czapek (Fr.), Biochemie der Pflanzen. Iena, 1905.

Recherches microchimiques du glycogène (t. I, p. 234, n. 2).
Sur les hydrates de carbone des organismes inférieurs (t. I, p. 238).

Fischer (A.), A new method for staining glycogen. (*Anat. Anzeiger*, **26**, 399 [1905]. Résumé dans *Journ. Roy. microsc. Soc.*, 1905, p. 385.)

« The author describes the following method for staining glycogen, which was tested on the liver of the pig.

» Fixation in alcohol : the paraffin sections are placed in alcohol and

passed straight away to a 10 % aqueous solution of tannin for 10–15 minutes. The sections are washed in 1 % solution of potassium bichromate for fixation. The glycogen is by this time almost insoluble and will stand washing with water and staining with aqueous solutions. Staining for 10 minutes in safranin-anilin water solution gives beautiful pictures. After staining, the preparation is rapidly treated with alcohol and xylol and mounted in balsam.

» Other basic anilin dyes, such as gentian-violet, methylen-blue, etc., may be used; these stains only the glycogen. The acid anilin dyes do not stain. »

Fürth (O. von), Vergleichende chemische Physiologie der niederen Thiere. Iena, 1903.

L'auteur s'y occcupe des réserves (glycogène et corps gras), des poisons animaux, etc.

Green (J.-R.), The soluble ferments and fermentation. Cambridge, 2e édit., 1901.

L'auteur a trouvé (pp. 32, 63, etc.) chez des Champignons une diastase saccharifiant le glycogène.

Guichard, Contribution à l'analyse des Champignons. (*Bull. Soc. myc. France*, **11**, 88 [1895].)

Hill (A.-C.). Reversible Zymohydrolysis. (*Transact. Chem. Soc.*, 1898, p. 634.)

L'auteur montre que la maltase, qui dédouble la maltose en hexose (glycose), peut aussi régénérer la maltose au moyen de glycogène.

Külz (R.), Zur quantitativen Bestimmung des Glycogens. (*Zeitschr. f. Biol.*, **22**, 161 [1886]. Analysé dans *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **19**, 625 [1886].)

Aussitôt après la mort de l'animal, l'organe grossièrement découpé est jeté dans l'eau déjà bouillante, dans une capsule de porcelaine (400 centimètres cubes d'eau environ pour 100 grammes d'organe) et fortement bouilli pendant une demi-heure, pour détruire les ferments.

Pour le foie, on écrase et râpe les morceaux dans la « Reibschale ». On remet la bouillie dans l'eau et l'on ajoute 3-4 % de KOH (3-4 grammes par 100 grammes d'organe) sous forme de solution. On chauffe au

bain-marie pendant deux à trois heures, puis éventuellement dans un verre de Bohême couvert d'un verre de montre jusqu'à complète dissolution.

Pour les muscles, on découpe les fragments tués par l'eau chaude et l'on ajoute la potasse (4 grammes par 100 grammes de muscle). On chauffe plusieurs heures au bain-marie. S'il reste des morceaux, on les prend avec une passoire en porcelaine, les écrase dans un mortier et les y râpe soigneusement. On remet cette bouillie dans le liquide. On chauffe avec la potasse pendant quatre, six ou huit heures.

La solution obtenue est refroidie, neutralisée par HCl, puis traitée par HCl et $HgI_2 . 2KI$. Si les derniers restes d'albuminoïde restent en suspension, on peut neutraliser approximativement la solution chlorhydrique par KOH ou NaOH, puis rajouter HCl. Le précipité volumineux de Hg est filtré sur un filtre en papier épais, enlevé du filtre au moyen d'une spatule, additionné, dans une capsule, d'eau à laquelle on ajoute $HgI_2 . 2KI$ et reversé sur le même filtre. Il suffit de répéter cette opération quatre fois.

Le filtrat est additionné « unter kräftigem Umrühren » de 2 volumes d'alcool à 96 °/₀ et laissé pendant douze heures dans un endroit frais. On décante, filtre et lave bien le précipité sur le filtre, au moyen d'alcool à 62 °/₀ et à 96 °/₀. Le précipité encore humide est dissous dans un peu d'eau chaude dans un verre de Bohême couvert; après refroidissement, on traite encore par quelques gouttes HCl et $HgI_2 . 2KI$, filtre et précipite le filtrat avec de l'alcool « unter fleissigem Umrühren ». « Das auf einem gewogenen Filter gesammelte Glykogen wird erst mit 62 procentigem, dann mit absolutem Alkohol, dann mit Aether, schliesslich nochmals mit absolutem Alkohol gewaschen und nach dem Trocknen bei 110° zur Wägung gebracht. Endlich wird noch der Aschegehalt ermittelt. »

NERKING (J.), Beiträge zur Physiologie des Glykogens. (*Arch. f. gesammte Physiol.*, **81**, 8 [1900].)

Il résulte des essais de l'auteur :

a) Que la durée de la cuisson et la concentration en KOH exercent une grande influence. Celle-ci ne s'exerce pas dans un sens donné et toujours le même, parce qu'elle résulte de deux actions contraires :

La libération du glycogène par l'action de la potasse;

La destruction par la potasse du glycogène libéré.

b) Il suit de là qu'il faut admettre que le glycogène est en partie au moins à l'état de combinaison avec l'albumine. Peut-être le glycogène que l'on peut extraire par l'eau seule est-il le glycogène libre; et l'autre est-il combiné à l'albumine.

Pflüger (E.), Die Bestimmung des Glykogens nach Brücke und Külz. (*Arch. f. gesammte Physiol.*, **75**, 120 [1899].)

L'auteur formule de nombreuses objections contre la méthode de dosage de Külz, notamment le déficit de glycogène dû à l'enrobement de ce glycogène dans le précipité albumineux et qui ne peut être extrait par des lavages successifs (chap. IV); l'influence que la coction avec KOH détermine sur le glycogène (chap. V); les erreurs résultant de l'emploi du réactif de Brücke (chap. VII); les erreurs résultant de la précipitation incomplète du glycogène par l'alcool; enfin, les erreurs résultant de la dessiccation du glycogène.

L'auteur formule, en outre, des prescriptions qui, suivies à la lettre, ne donnent pas encore de bons résultats, puisqu'il recommande d'ajouter 12 °/₀ comme correction pour compenser les pertes dues aux procédés imparfaits d'extraction.

Pflüger (E.), Glykogen. (*Arch f. gesammte Physiol.*, **96**, 1 [1903].)

L'auteur s'occupe de l'analyse qualitative et quantitative du glycogène (analyse colorimétrique).

Page 153 : « Glykogen bei niederen Thieren ».

Chapitre IV : « Ursprung des Glykogens ».

Chapitre V : « Abbau des Glykogens ».

Pflüger (E.) et Nerking (J.), Eine neue Methode zur Bestimmung des Glykogens. (*Arch. f. gesammte Physiol.*, **76**, 531 [1899].)

On dissout l'organe comme par la méthode de Külz, modifiée par Pflüger, en tenant bien compte de la quantité de KOH qui intervient dans cette préparation. On réduit cette solution à un volume connu (500 centimètres cubes) et on laisse reposer jusqu'à ce que la solution soit claire; on filtre rapidement et l'on prélève 100 centimètres cubes de cette solution alcaline de l'organe. On y ajoute la quantité de KOH nécessaire pour qu'il y ait exactement 3 grammes de KOH par 100 centimètres cubes de solution, puis 10 grammes de KI et 50 centimètres cubes d'alcool à 96°, et l'on filtre. On lave le précipité sur le filtre (deux fois) au moyen de 100 centimètres cubes d'eau, 3 grammes de KOH, 10 grammes de KI et 50 centimètres cubes d'alcool à 96°; puis au moyen d'alcool à 66° renfermant $0^{gr}25$ de NaCl par litre. On redissout le glycogène dans HCl à 2.2 °/₀ et on l'invertit au bain-marie bouillant pendant trois heures. On dose le sucre.

Schulze (E.), In wie weit stimmen der Pflanzenkörper und der Tierkörper in ihren chemischen Zusammensetzungen überein und in wie fern gleicht der pflanzliche Stoffwechsel dem tierischen? (*Vierteljahrschr. naturf. Gesellsch. Zürich*, **39**, 243 [1894].)

L'auteur parle de glycogène chez les Champignons et chez les Algues.

Slosse (A.), Note sur la détermination quantitative du glycogène. (*Journ. médic. Bruxelles*, 1901, p. 316.)

Pflüger et son élève Nerking ont insisté sur deux causes d'erreur notables de la méthode d'extraction du glycogène de Brücke-Külz :

La destruction de glycogène par la potasse, même à froid.

La rétention de glycogène dans le précipité d'albuminoïdes par l'iodure double de mercure et de potasse.

Aussi proposent-ils une nouvelle méthode; dans le liquide, on précipite le glycogène par l'alcool, sans avoir formé de précipité préalable d'albuminoïdes; puis on redissout le glycogène, on le saccharifie et l'on dose le sucre.

Slosse discute aussi les méthodes de dosage du glycogène récemment indiquées par Gautier et par Garnier, il en indique les défauts et conclut :

« Nous pensons que, pour le moment, c'est à la méthode de Pflüger-Nerking qu'il faut avoir recours pour les déterminations quantitatives du glycogène. »

Würtz (A.-D.), Dictionnaire de chimie. 2me supplément.

Par l'acétate de sodium, la coloration du glycogène par l'iode passe au bleu violet (p. 876).

II. — SCHIZOPHYTES.

1. Schizomycètes.

Benecke (W.) et Keutner (J.), Ueber stickstoffbindende Bacterien aus der Ostsee. (*Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, **21**, 333 [1903].)

On signale des réactions bleues, violettes, rouges, etc., chez des Bactéries.

Beyerinck (W.) et van Delden (A.), Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. u. Infektionskrankh.*, II, **9**, 3 [1902].)

Les auteurs disent en passant (note, p. 40) que les Bactéries du groupe *Megatherium* présentent « eine auffallende Glycogenreaktion ».

Bütschli (O.), Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig, 1890.

L'auteur parle de l'action de l'iode sur la matière colorée et la substance amylacée de *Chromatium* et *Ophidomonas* (pp. 10-11). La coloration « bleu rouge » disparaît à chaud et revient à froid.

Bütschli (O.), Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig, 1896.

Errera (L.), Sur le glycogène ou une substance voisine chez les Bactéries. (*Bull. Soc. belge de Microsc.*, **18**, 154 [1891-1892].)

A propos d'une communication, faite par M. le docteur Verhoogen, sur la structure des Bactéries, M. Errera dit qu'il a observé dans certaines Bactéries, et notamment dans le *Bacillus Amylobacter*, provenant d'une culture sur gélatine avec phosphoglycérate de calcium, des masses irrégulières, brillantes, très réfringentes, prenant une teinte brunâtre par l'iode. La coloration disparaissait à chaud et réapparaissait par le refroidissement. La même Bactérie cultivée sur d'autres milieux n'a pas présenté ces masses particulières. Il s'agit sans doute là d'une réserve voisine du glycogène typique des Champignons, peut-être même identique avec lui.

Gottheil (O.), Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. Beiträge zur Methode der Speciesbestimmung und Vorarbeit für die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung der Bodenbakterien für die Landwirtschaft. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. und Infektionskrankh.*, II, **7**, 430 [1901].)

D'après l'auteur, il résulte de ses observations (p. 460) « dass die Fettund Glykogenbildung als sehr gute diagnostische Merkmale zu gebrauchen sind ».

Certaines espèces, quand elles sont bien nourries, forment du glycogène (notamment *Bacillus subtilis*, pp. 635 et 680), d'autres de la graisse.

Hinze (G.), Ueber den Bau der Zellen von *Beggiatoa mirabilis* Cohn. (*Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, **19**, 369 [1901].)

Par des matières colorantes, on met en évidence dans les cellules des grains nombreux, irrégulièrement distribués, et que l'auteur désigne comme des grains de chromatine; ils ont de 0.1 à 0.8 μ de diamètre.

Il y a aussi dans les cellules d'autres grains, plus gros, se colorant en bleuâtre ou en brunâtre par une solution de I dans KI. C'est, très probablement, une substance hydrocarbonée voisine de l'amidon. Ce n'est pas du glycogène, puisque la substance n'est pas soluble dans l'eau. Il l'appelle amyline. Ces grains sont de dimensions variables, tantôt sphériques, tantôt ovales; certaines cellules en contiennent beaucoup, d'autres peu. On peut aussi les reconnaître, par leur réfringence, dans la cellule vivante. Ils sont lentement solubles dans la salive.

Meyer (A.), Ueber Geisseln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bacterien. (*Flora*, **86**, 428 [1899].)

Pages 440-449 : « Die mit Jod farbbaren Polysaccharide, welche als Reservestoffe in den Bakterienzellen auftreten. » Il semble ignorer (p. 447) que Clautriau a pleinement confirmé mon indication sur l'absence de réduction chez l'hydrate de carbone des Champignons.

Miyoshi (M.), Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbacterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. (*Journ. Coll. of Science, Univ. Tokyo*, **10**, 143 [1897].)

L'auteur décrit les réactions de la masse gélatineuse des Bactéries sulfuraires thermales du Japon. Ce mucilage se colore en jaune par l'iode, en rouge brique ou brun par I et H_2SO_4, etc.; bref, elle a toutes les réactions colorées des substances mucilagineuses (« Schleimsubstanz »).

Salmon (P.), Glycogène et Leucocytes. Sceaux, 1899.

Le glycogène existe peut-être chez *Bacillus anthracis* (p. 9, note 3).

Schmidt (J.) et Weis (F.), Die Bakterien, naturhistorische Grundlage für das bakteriologische Studium. Iena, 1902.

« Die Wand der Bakterienzelle (p. 21) besteht in der Regel ganz vorwiegend aus eiweisshaltigen Stoffen... Als reine Ausnahmen hat man gefunden, dass die Zellwände gewisser Bakterien Cellulosereaktion geben (z. *B. Sarcina ventriculi* und eine Essigsäurebakterie *Bacterium xylinum*); bei den ersteren ist dies jedoch zum Theil von den Bedingun-

gen abhängig, unter denen die Bakterie gelebt hat (Migula). Die Schleimkapsel einer anderen Essigsäurebakterie, Bacterium Pasteurianum, wird durch Jod blau gefärbt, was auf den Inhalt eines stärkeartigen Stoffes deutet (E. Chr. Hansen). »

« Bei gewissen anaeroben Bakterien (p. 31), unter anderen den gewöhnlichen Buttersäurebakterien (*Bacillus amylobacter*), tritt kurz vor der Sporenbildung ein Stoff auf, der mit Jod stark blau gefärbt wird (Van Tieghem). Das deutet auf das Vorhandensein eines stärkeartigen Kohlenhydrats im Protoplasma. »

Chez ces mêmes Bactéries (p. 57), il n'y a, dans les cellules végétales non sporifiantes, qu'une réaction jaune par l'iode.

Winogradsky (S.), *Clostridium Pastorianum*, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. und Infektionskrankh.*, II, **9**, 43 [1902].)

L'auteur donne des indications sur une réaction intense brun violet que l'iode donne, à certains stades, à ce microbe. Il appelle cette substance « amyloïde Substanz » et il la regarde comme identique à celle de *Clostridium butyricum*.

2. Schizophycées.

Bütschli (O.), Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig, 1890.

Bütschli (O.), Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig, 1896.

Chodat (R.), *Chroococcus turgidus*. (*Arch. Sc. phys. et nat.* [3], **32**, 637 [1894].)

Traitée par l'eau iodée et IK, cette Cyanophycée prend une couleur brun chocolat qui est plus intense dans la région vacuolisée, le réseau, ce qui semble indiquer que cette substance, voisine de l'amidon, se localiserait dans cette région. Soit cette substance, soit le mucilage peuvent imprégner la masse du stroma. Ces colorations n'apparaissent pas dans tous les cas, mais varient beaucoup en intensité.

Fischer (A.), Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Iena, 1897.

L'auteur indique (p. 37) chez *Hapalosiphon pumilus* des grains colorables en jaune brun par l'iode, d'autres pas; mais les premiers perdraient leur colorabilité par l'alcool ou par la digestion. Ces mêmes grains se colorent en noir par l'acide osmique. Chez les espèces que cet acide ne noircit pas, il n'y a pas non plus de grains colorés par l'iode.

« *Tolypothrix* gab nach Alcoholbehandlung mit Jod in sehr vielen Zellen eine diffuse Glykogenfärbung, worauf schon Bütschli (I, 17; II, 43) hingewiesen hat. »

Fischer (A.), Die Zelle der Cyanophyceen. (*Bot. Zeitung*, I Abt., **63**, 51 [1905].)

L'auteur s'occupe du glycogène (p. 106).

Hegler (R.), Untersuchungen über die Organisation der Phycochromaceenzelle. (*Jahrb. für wissensch. Bot.*, **36**, 229 [1901].)

Résumé par Zacharias, dans *Botanische Zeitung*, **59**, 323 (1901). « Als erstes wahrnehmbares Assimilationsproduct der Cyanophyceen bezeichnet Hegler das Glycogen, welches er in der Rindenschicht, nicht im Centralkörper nachweisen konnte. Durch mehrwöchentliche Dunkelcultur konnte das Glycogen zum Schwinden gebracht werden. Nach Belichtung der Culturen trat es dann wieder auf. »

Zacharias trouve que la méthode de démonstration du glycogène par Hegler laisse à désirer, et il s'appuie aussi sur les réserves formulées par Clautriau.

Kohl (F.-G.), Ueber die Organisation der Cyanophyceen-Zelle und die mitotische Teilung ihres Kernes. Iena, 1903.

L'auteur s'y occupe entre autres du glycogène. Il se prononce pour l'existence d'un noyau entouré de cytoplasme périphérique avec des chromatophores.

Nadson (G.), Ueber den Bau des Cyanophyceen-Protoplastes. (*Scripta bot. Horti Univ. Petropolitanae*, **4** [1895].)

Chez toutes les formes dont le protoplasme a été étudié dans des conditions normales, on trouve encore des granulations d'un autre genre que j'ai mentionnées sous le nom de granulations de réserve.

Leurs dimensions et leur nombre dans la cellule sont très variables.

Leur réaction avec l'hématoxyline et d'autres matières colorantes les distingue bien des microsomes que je viens de mentionner, ainsi que des granulations de chromatine dont je vais parler plus bas. Les premières connaissances assez exactes à leur sujet se trouvent chez M. A. Borzi, qui les a nommées provisoirement « cianoficina ». D'après ses recherches, elles proviennent de l'enveloppe cellulaire, et notamment des cloisons transversales. D'après leur nature chimique, elles ont beaucoup de ressemblance avec la gélatine des Nostocs; d'après leur fonction, elles correspondent à l'amidon des autres Algues, en se présentant comme une matière de réserve.

Selon l'opinion de M. E. Palla, il faut envisager ces granulations comme le premier produit apparent de l'assimilation.

Certains auteurs, se guidant par la réaction de l'iode (L. Errera, L'épiplasme des Ascomycètes, et O. Bütschli, Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen), signalent la présence de glycogène dans les cellules des Oscillaires. Cette question a besoin de recherches ultérieures plus précises et plus détaillées.

Nadson (G.), Die perforierenden (kalkbohrenden) Algen und ihre Bedeutung in der Natur. (*Scripta bot. Horti Univ. Petropolitanae*, 1900, fasc. 18.)

Hyella caespitosa est une Chamaesiphonacée dont les cellules contiennent du glycogène et qui forme une enveloppe gélatineuse se colorant en bleu par l'iode.

Palla (E.), Beitrag zur Kenntnis des Baues des Cyanophyceen-Protoplastes. (*Jahrb. für wiss. Bot.*, **25**, 534 [1893].)

Zacharias (E.), Ueber die Cyanophyceen. (*Abh. aus dem Gebiete der Naturwissensch., Naturw. Verein. Hamburg*, **16** [1900].)

L'auteur indique du glycogène chez diverses Cyanophycées : *Oscillaria, Lyngbya, Peltigera, Collema, Gloiotrichia Pisum*, et des grains se colorant en bleu par l'iode dans les « gonidies » de *Xanthoria*. Il semble que ces dernières forment de l'amidon, comme les « gonidies » de *Collema* et *Peltigera* forment de la cyanophycine.

Il donne quelques indications sur les variations saisonnières de la réaction du glycogène.

Il dit qu'il préfère, pour la recherche du glycogène, une solution aqueuse d'iode à la solution d'IKI.

ZACHARIAS (E.), Ueber die Cyanophyceen. (*Jahrb. Hamburg. wiss. Anst.*, **21**, 3 *Beih.*, *Arb. bot. Inst. Hamburg*, 1904.)

III. — SPOROZOAIRES.

BUSCALIONI (L.), Sulla presenza di sostanze amilacee (amilodestrina?) nel *Coccidium oviforme*. (*Malpighia*, **10**, 535 [1896].)

L'auteur donne une bibliographie assez étendue.

BÜTSCHLI (O.), Bemerkungen über einen dem Glykogen verwandten Körper in den Gregarinen. (*Zeitschr. für Biologie*, **21**, 602 [1885].)

Bütschli s'était déjà occupé (*Arch. f. Anatom. u. Physiol.*, 1870, p. 362) des grains qui remplissent presque toujours l'entoplasme des Grégarines et il les avait considérés comme une substance « dem Amyloid verwandt ». (Il s'agit évidemment de l'amyloïde des zoologistes, c'est-à-dire d'une substance azotée.) Puis Frenzel y est revenu (*Arch. f. mikrosk. Anat.*, **24**, 545) et conteste les conclusions et même une partie des observations de Bütschli.

Bütschli avait indiqué, en 1870, que les grains prennent par la teinture d'iode « eine braunrothe bis braunviolette Farbe, die sich auf Zusatz von etwas Schwefelsäure in eine sehr schön weinrothe bis veilchenblaue Farbe umändert ». Pour Frenzel, ce n'est pas de l'amyloïde, car il n'a obtenu par l'iode chez les grains de *Clepsidrina blattarum* que « eine gelb- bis dunkelbraune Färbung der Körner, die sich bei Zusatz von H_2SO_4 fast nicht veränderte ». De plus, ils se colorent en bleu par le violet de méthyle, en rouge faible par la safranine.

Bütschli a donc refait ses essais et les a trouvés exacts; et il s'est demandé si le corps ne se rattache pas au glycogène plutôt qu'à l'amyloïde. Il a constaté que la coloration disparaît lorsque l'on chauffe la préparation « bis nahe an den Siedepunkt » et qu'elle revient par le refroidissement. « Beim Erhitzen quellen aber die Körner ganz in derselben Weise auf wie bei Behandlung mit [halbverdünnter] Schwefelsäure und sie erhalten dann auch bei dem Erkalten nicht mehr die ursprüngliche braunrothe Farbe, sondern die weinrothe bis veilchenfarbige, wie nach der Behandlung mit Schwefelsäure. » D'après ses réactions, c'est un corps dont certaines propriétés concordent avec le glycogène, tandis que d'autres s'en écartent notablement. Les résultats

présentent du reste une certaine inconstance. Ces grains sont solubles dans l'eau bouillante et on peut ainsi les extraire des Grégarines, surtout si on a soin de les « pulvériser dans un mortier d'agate » et de prolonger l'ébullition trois à quatre heures et davantage. Cependant, comme la cuticule du deutomérite éclate à l'ébullition, la substance en est extraite même sans trituration. Le liquide filtré obtenu donne la coloration rouge vineux ou pourpré par l'iode. Le corps dissous dans ce liquide est précipité par l'alcool; après ébullition prolongée avec H_2SO_4 à 3 °/₀ il réduit la liqueur de Fehling. Si l'on cuit directement les Grégarines avec H_2SO_4 à 1 °/₀, les grains se dissolvent et, par suite de la destruction de la cuticule, leur substance va dans le liquide ambiant : ici l'on n'a pas la réaction par l'iode, mais il y a une réaction de sucre par la liqueur de Fehling et par le nitrate basique de bismuth. Si l'on traite les animaux entiers par la salive, vers 40°, les grains sont également dissous, mais la cuticule demeure intacte et le liquide ambiant ne donne pas de réaction de sucre, ni de coloration par l'iode; les animaux ne contiennent plus la substance colorable par l'iode.

La solution aqueuse du corps primitif traitée par la salive à 40° ne présente plus la réaction par l'iode, mais ne donne pas non plus de réaction par la liqueur de Fehling, ou seulement une trace. Cette même solution bouillie par le H_2SO_4 dilué réduit abondamment la liqueur de Fehling.

« Ich kann aus diesen Resultaten nur schliessen, dass unser Körper von dem Speichelferment rasch verändert, aber nicht in reducierenden Zucker übergeführt wird. »

(Note, p. 608 : Après enlèvement des grains de la Grégarine par l'eau, la salive ou le H_2SO_4 dilué, il y reste encore de nombreux granules ou gouttelettes [cf. Protozoa, p. 517] facilement solubles dans l'alcool et brunissant fortement par l'acide osmique; il ne doute donc pas que ce soit une graisse.)

Une fois il n'a pas obtenu de réduction après ébullition prolongée avec H_2SO_4 à 33 °/₀. De même, par ébullition avec HCl, il a obtenu avec certaines solutions du corps une réduction abondante; tandis qu'une partie d'une solution (que le H_2SO_4 saccharifiait très bien) n'a rien donné par le HCl.

« Ich bin unvermögend zu sagen, worauf diese Differenzen, welche sowohl bei der Schwefel- wie bei der Salzsäurebehandlung eintraten, beruhen. Man möchte fast der Vermuthung Raum geben, dass sich der fragliche Körper nicht immer in gleicher Weise verhalte. »

Je récapitule les propriétés du corps en question :

Il est incolore, insoluble ou difficilement soluble dans l'eau froide, gonfle et se dissout peu à peu dans l'eau chaude (et reste alors en solution après refroidissement). La solution est ordinairement opalescente

et non diffusible. Insoluble dans l'alcool et dans l'éther. Dissous dans l'eau, il est précipité par l'alcool.

« In seiner festen Form, wie er sich in dem Thierkörper findet, wird er durch Jod braunroth bis braunviolett gefärbt, in der Lösung dagegen oder in gequollenem Zustand weinroth bis purpurroth. Die Färbung verschwindet beim Erhitzen und kehrt beim Erkalten wieder. »

Il est modifié rapidement par la salive, mais en ne donnant pas, ou seulement des traces, de sucre réducteur. Par l'ébullition prolongée avec H_2SO_4 dilué, on le transforme ordinairement en sucre réducteur; par HCl concentré, cela réussit quelquefois. Il ne donne pas de réaction de Millon dans la solution aqueuse.

Il semble donc que ce soit un proche parent du glycogène, mais non identique à lui. « Man könnte ihn vielleicht, wenn sich die ausgesprochene Ansicht auch weiter bestätigen sollte, als Paraglykogen von dem eigentlichen unterscheiden.

» Was die physiologische Rolle angeht, welche der in den Gregarinen gewöhnlich so massenhaft abgeschiedene Körper spielt, so ist dieselbe jedenfalls identisch mit der der Amylon- und Paramyloneinlagerungen, welche wir bei den meiner Ansicht nach verwandten Flagellaten häufig in so grosser Menge finden und demnach die eines aufgespeicherten Nahrungsstoffes. »

Un corps ressemblant au paraglycogène par son aspect et sa réaction par l'iode se trouve dans d'autres Protozoaires : dans l'Infusoire parasite de l'intestin terminal de la Blatte : *Nyctotherus ovalis*, dans un Infusoire de la baie de Kiel : *Strombidium*. Dans ce dernier, il s'agit de grains non pas irréguliers, mais en lamelles cristallines à contours rectilignes. Dans certains Infusoires, Certes a indiqué des granulations glycogéniques; c'est peut-être du paraglycogène.

Cuénot (L.), Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. (*Arch. f. Biol.*, **17**, 581 [1900].)

Maupas (E.), Sur les granules amylacées du cytosome des Grégarinées. (*Comptes rendus*, **102**, 120 [1886].)

L'auteur s'occupe des granules que Bütschli appelle paraglycogène. Ses propres observations à l'aide du chlorure de zinc iodé l'avaient depuis longtemps persuadé que ces granules appartiennent « au groupe d'hydrates de carbone de la série amylacée ». Bien que ses observations ne soient que la confirmation de celles de l'éminent micrographe alle-

mand, il les publie « parce qu'elles les complètent et les rectifient sur quelques points d'un intérêt assez important ».

« Ces granules existent dans le cytosome de toutes les Grégarines, sans aucune exception. On les retrouve également chez quelques Infusoires ciliés (*Nyctotherus* et *Balantidium*) qui, comme les Grégarines, mènent une vie parasitaire à l'intérieur de l'intestin de leurs hôtes. Leurs dimensions sont très diverses. J'en ai mesuré dont le plus grand diamètre égalait 1 μ à 2 μ jusqu'à 20 μ. Leurs formes sont également fort différentes : tantôt ovales aplaties, tantôt sphériques, tantôt en disques, tantôt plus ou moins irrégulières. Malgré cette variabilité, chaque espèce de Grégarine ou d'Infusoire possède cependant une forme caractéristique et spécifique. Les gros granules, arrivés à leur accroissement complet, en effet, se présentent toujours avec une forme et des dimensions semblables, spéciales à chaque espèce. Aussi suis-je persuadé que, dans les cas où la détermination des espèces de Grégarines est difficile (par exemple les Grégarines des Lombrics), les gros corpuscules amylacés, que j'appelle caractéristiques, pourront fournir un excellent critérium spécifique. Parmi les granules de grande taille, on en trouve assez fréquemment dont la masse est différenciée en couches concentriques, semblable à celles de l'amidon végétal. Cette stratification devient surtout apparente après le gonflement artificiel des granules et leur coloration par l'iode.

» Examinés à la lumière polarisée, les nicols croisés, ils montrent tous une croix de polarisation semblable à celle de l'amidon végétal. Avec les corpuscules de grande taille, cette croix apparaît déjà très nettement à la lumière diffuse, mais quand on veut la voir sur ceux de moyenne et de petite taille, il faut recevoir les rayons solaires directement sur le miroir du microscope. La croix de polarisation devient alors très nette, même avec les granules ne mesurant que 2 μ. »

Contrairement à Frenzel, l'auteur n'a pas vu qu'ils s'altèrent ou se dissolvent dans le chlorure de sodium à 10 °/₀.

« Traités par l'iode (dans ces recherches, ainsi que dans celles sur le glycogène, je me suis toujours servi de la solution ioduro-iodée que voici : eau, 100 grammes; KI, $0^{gr}15$; iode, des cristaux à saturation; cette solution constitue un excellent réactif pour tuer et fixer les Infusoires), ils se colorent en jaune brunâtre. Ajoute-t-on alors à la préparation de l'acide sulfurique à 40 °/₀, on les voit se gonfler en se distendant et se plissant de façons fort diverses; en même temps la coloration devient d'un joli violet lilas. Pour bien observer cette réaction, et toutes les autres d'ailleurs, il faut, bien entendu, avoir soin d'écraser préalablement les Grégarines ou les Infusoires, afin de mettre les granules en liberté.

» L'acide sulfurique et les autres acides minéraux concentrés les

attaquent rapidement et les dissolvent sans en laisser de traces. Les alcalis, concentrés ou non, les distendent et les gonflent si fortement qu'ils deviennent invisibles; mais, après lavage à l'eau distillée, ils reparaissent en se dégonflant un peu, et la solution ioduro-iodée les colore en violet lilas.

» Parfaitement insolubles dans l'eau froide, ils sont, au contraire, très solubles dans l'eau chaude. Sur la platine chauffante, on les voit, vers 40° C., se distendre et se gonfler, comme sous l'action de l'acide sulfurique étendu. Arrête-t-on là le chauffage et ajoute-t-on une goutte de la solution iodée, ils se colorent en violet lilas. Continue-t-on le chauffage, on ne tarde pas à les voir se dissoudre et disparaître. Le degré de chaleur auquel cette dissolution s'effectue, peut varier un peu d'une espèce à l'autre. Je l'ai toujours vu compris entre 45° et 60° C.

» Cette solution dans l'eau chaude jouit d'un pouvoir réducteur assez élevé sur les liqueurs cupropotassiques. En effet, mélangée avec la liqueur de Fehling et portée à l'ébullition, elle détermine immédiatement un abondant précipité de sous-oxyde de cuivre.

» J'ai mis de ces granules dans un tube avec de la diastase et les ai chauffés pendant une heure à la température de 20°. Les granules avaient disparu et la solution réduisait énergiquement la liqueur de Fehling. Mais je ne saurais affirmer qu'il se fût formé du glycose, puisque la solution à l'eau chaude pure jouit du même pouvoir réducteur. Pour avoir une preuve rigoureuse de leur transformation en sucre, il eût fallu faire fermenter la solution diastasique. Je n'ai pas eu assez de matériaux pour réaliser cette expérience.

» De l'ensemble de ces observations, il est évidemment incontestable que la substance composante de ces granules appartient à la série amylacée, mais je crois que, dans cette série, on doit plutôt la rapprocher de l'amidon que du glycogène. En effet, la coloration par l'iode en jaune brunâtre, puis en violet lilas après gonflement, se retrouve absolument identique chez l'amidon des Floridées. Le glycogène ne se rencontre jamais en capsules solides, insolubles dans l'eau froide, ayant des formes spécifiques et jouissant de propriétés polarisantes. Tous les amidons végétaux, au contraire, sont doués de ces propriétés et sont plus ou moins solubles dans l'eau chaude. Le glycogène, enfin, ne réduit pas la liqueur cupropotassique, tandis que l'amidon soluble est réducteur. Je crois donc qu'on devra remplacer la dénomination de paraglycogène, proposée par Bütschli, par celle de « zooamylum », qui, en précisant mieux la parenté chimique de ces granules, indique leur origine animale.

» Au point de vue chimique, le zooamylum offre un grand intérêt, puisqu'il nous montre une substance amylacée réductrice des liqueurs

cupropotassiques, sans qu'on puisse le soupçonner d'un mélange avec du glucose.

» Au point de vue de la physiologie cellulaire, leur mode de formation n'est pas moins intéressant. En effet, ces granules amylacés, avec leurs formes solides si bien définies et si spécialisées, prennent naissance au sein de la masse sarcodique, sans l'intermédiaire d'organes particuliers, comparables aux amyloplastes des végétaux. »

Prowazek (S.), Zur Entwicklungsgeschichte der Gregarinen. (*Arch. f. Protistenk.*, **1**, 297 [1902].)

« Inzwischen lösten sich in dem inneren Plasmaraume der Syzygoten die Paraglykogenkörper auf, und es bildeten sich hier und dort Vacuolen aus. »

IV. — RHIZOPODES.

Stolc (A.), Beobachtungen und Versuche über die Verdauung und Bildung der Kohlenhydrate bei einem amöbenartigen Organismus, *Pelomyxa palustris*. (*Zeitschr. wiss. Zool.*, **68**, 625 [1900].)

L'auteur a vu (p. 661) que les substances hydrocarbonées sont assimilées par le *Pelomyxa* et emmagasinées sous forme de glycogène dans les « Glanzkörper ».

Le glycogène s'accumule quand la nutrition est abondante.

V. — MYXOMYCÈTES.

Ensch (N.), Le glycogène chez les Myxomycètes. (*Miscell. biol. Station Zool. Wimereux*, 1899, p. 212, et *Rec. Inst. bot. Bruxelles*, **1**, 297 [1905].)

Laurent (E.), Travaux pratiques de botanique de l'Institut agricole de Gembloux, 1901, 2e année, leçon IX.

Le plasmode de *Plasmodiophora* contient du glycogène, les spores renferment de l'huile.

VI. — INFUSOIRES.

Bütschli (O.), Protozoa, dans H.-G. Bronn's Klassen und Ordnungen des Thierreichs, Bd I. Leipzig, 1887-1889.

Sur le glycogène chez les Infusoires, voy. 3. Abt., p. 1469.

Lang (A.), Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Thiere. Deuxième édition, 1901.

« Gelöstes Glykogen (I. 1. Protozoa, p. 62) wurde von Maupas im Endoplasma von *Paramaecium aurelia* diffus vertheilt nachgewiesen. »

VII. — FLAGELLATES.

Klebs (G.), Flagellatenstudien. (*Zeitschr. für wiss. Zool.*, **55**, 265, 353 [1892].)

L'auteur indique chez *Bodo caudatus* une masse globuleuse, peut-être du glycogène (note, p. 315); *Colponema loxodes* (p. 323) renferme des sphères réfringentes « fettartig »; *Hexamitus* (p. 336) et *Urophagus* (p. 342) possèdent du glycogène; plusieurs espèces ont du paramylon (pp. 354, 364, 373, 376, 385). *Sphenomonas* et *Atractonema* (p. 361) renferment des « Gallertkörper »; *Vacuolaria* contient de la graisse comme « Stoffwechselprodukt ». Les Chrysomonadines ont une substance spéciale, la « leucosine », soluble dans la plupart des véhicules et qui se retrouve probablement chez *Hydrurus* et les Phéosporées.

Senn (G.), Flagellata, dans A. Engler et K. Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, I. Teil, Abt. 1*a*, p. 93. Leizig, 1900.

Sur les produits d'assimilation des Flagellates, voy. pp. 103, 110, 111 et *passim* dans ce fascicule.

VIII. — CHAMPIGNONS.

1. Phycomycètes.

Dangeard (P.-A.), Recherches histologiques sur les Champignons. (*Le Botaniste*, **2**, 63 [1890-1891].)

Parlant de *Saprolegnia Thureti* De Bary, l'auteur décrit (p. 108), dans l'oosphère qui vient de se recouvrir d'une membrane, l'apparition dans

le protoplasme de « corpuscules qu'on pourrait prendre, à un examen rapide, pour des grains d'amidon; l'action de l'iode les colore en brun sombre, tandis que le protoplasme prend une teinte jaunâtre. Leur nombre est variable et il ne correspond nullement à l'âge des oosphères; dans le même oogone, on trouve des oosphères qui n'en ont qu'un à peu près central et alors assez gros, ou deux légèrement éloignés l'un de l'autre, ou enfin plusieurs (fig. 19, pl. V) ».

« Plus tard (p. 109), un globule oléagineux se développe; à ce stade, comme à maturité, le nombre des corpuscules colorables par l'iode est très variable (fig. 26 et 27); l'action de l'iode suffit seule quelquefois à les déformer. »

L'auteur pense que c'est du glycogène « en gouttelettes ». Dans la suite de ce travail, au résumé, il revient (p. 141) sur cette réaction, mais au lieu de « corpuscules », il appelle ces corps « de petites gouttelettes ». Il ajoute : « C'est du glycogène qui, je crois, n'avait pas encore été rencontré à cette place ».

Comme les gouttelettes de glycogène et le globule oléagineux apparaissent à peu près en même temps, il doute que l'huile dérive ici du glycogène, car « le développement du globule oléagineux n'entraîne nullement la disparition du glycogène ».

DANGEARD (P.-A.), Recherches sur la structure du *Polyphagus Euglenae* Now. et sa reproduction sexuelle. (*Le Botaniste*, **7**, 214 [1900].)

L'auteur décrit (p. 240) sous le nom de « coenosphère » un corpuscule qui serait fréquent chez les Champignons, ressemblerait aux pyrénoïdes et serait en rapport avec la formation du glycogène.

On devra également rechercher (p. 246) s'il n'existe point un lien étroit entre la présence du glycogène et la transformation oléagineuse subie par le protoplasme dans les kystes, les oospores et en général dans toutes les cellules qui passent à l'état de repos.

L'auteur rappelle (p. 245) qu'il a indiqué jadis du glycogène dans l'oosphère des Saprolégniacées.

HARTOG (M.), Recent researches on the Saprolegnieae. A critical abstract of Rothert's results. (*Annals of Botany*, **2**, 201 [1888].)

Environ un quart du protoplasme des zoospores devient brun foncé par l'iode, « and contains black granules just below the surface. Nothing of this shows in the fresh state, nor is there any polar relation of the



dark portion to the axis of the spore. Rothert [*Acad. Cracovie*, **17** (1887)] suggests no explanation; it seems to me that we may fairly refer the browning to glycogenic contents to be used up in the formation of the cyst-wall, when the spores come to rest. »

Hartog (M.), On the Cytology of the vegetative and reproductive organs of the Saprolegnieae. (*Trans. Irish Acad.*, **30**, 649 [1895].)

L'auteur indique chez ces Champignons du glycogène : « These glycogen droplets are recognisable as minute refractive drops, which stain a deep mahogany brown with watery solution of iodine. Owing to their minute size and high refractivity, their colour is only well shown in the full aperture of the Abbe condensor. »

Klebs (G.), Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. II. *Saprolegnia mixta* De Bary. (*Jahrb. wiss. Bot.*, **33**, 513 [1899].)

L'auteur indique le glycogène et la maltose comme les meilleurs aliments hydrocarbonés pour ce Champignon.

Laurent (E.), Étude sur la turgescence chez les Phycomyces. (*Bull. Acad. roy. de Belgique* [3], **10**, 57 [1885].)

L'auteur donne quelques indications sur le glycogène aux différents stades du *Phycomyces*.

Marchal (E.), Recherches biologiques sur une Chytridinée parasite du Lin. (*Bull. de l'Agriculture*. Bruxelles, 1901.)

Asterocystis radicis, le parasite de la « brûlure du Lin », présente d'après l'auteur une forte coloration en brun-acajou de ses jeunes plasmas par une solution faible de IKI.

Les corps protoplasmiques nus, issus des premiers plasmas de la Chytridinée, contiennent beaucoup de glycogène. Ces masses se fragmenteront en zoospores. Dans les spores durables, il n'y a pas de glycogène, mais en revanche une masse huileuse.

2. Ascomycètes.

a. Protoascales (Levures).

Beyerinck (M.-W.), Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen, wo diese Funktion im Verschwinden begriffen ist. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. u. Infektionskrankh.*, II. Abt., **4**, 657 [1898].)

Chez certaines espèces de Levures, ce sont les cultures sporogènes qui contiennent le plus de glycogène, chez d'autres les cultures non sporogènes (pp. 723, 726 et *passim*).

Braun (R.), Nachweis des Glykogens in Hefezellen. (*Zeitschr. für das gesammte Brauwesen*, **24** [1901].)

L'auteur recommande pour rechercher le glycogène chez *Saccharomyces* une solution « diluée » d'iode à 1/60 comme l'emploie Will, plutôt que la solution concentrée de Meissner à 7 °/₀. [Mais même cette solution diluée est déjà trop concentrée.]

Par cette solution, le glycogène de la Levure se colore d'abord en brun violet, puis en brun acajou.

Buscalioni (L.), Il *Saccharomyces guttulatus* Rob. (*Malpighia*, **10**, 281 [1896].)

L'auteur s'occupe du glycogène (pp. 281, 288).

Cremer (M.), Ueber Glycogenbildung im Hefepresssaft. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **32**, 2062 [1899].)

L'auteur montre que du suc de Levure, privé de glycogène et additionné de 30 °/₀ de lévulose, possède, après soixante heures, la réaction de glycogène.

Duclaux (E.), Sur la nutrition intracellulaire. (*Ann. Inst. Pasteur*, **3**, 413 [1889].)

L'auteur s'occupe des modifications de la Levure par la vieillesse et de l'augmentation de matière grasse dans celle-ci. Il parle de « la matière hydrocarbonée » de la Levure, mais ignore le glycogène.

Fisch (C.), Die systematische Selbständigkeit der Hefepilze. (*Biol. Centralbl.*, **4**, 484 [1884].)

L'auteur parle (p. 484) d'un « Epi- » ou « Periplasma » chez les *Saccharomyces* et *Exoascus*. Il ne dit pas quelle réaction cet épiplasme donne avec l'iode.

Grüss (J.), Eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Glykogens in der Hefe. (*Wochenschr. für Brauerei*, 1903, p. 1.)

Guilliermond (A.), Recherches histologiques sur la sporulation des Levures. (*Comptes rendus*, **133**, 1194 [1901].)

L'auteur donne quelques indications sur le glycogène chez *Saccharomyces*.

Guilliermond (A.), Recherches cytologiques sur les Levures et quelques Moisissures à formes-levures. Lyon, 1902.

L'auteur indique du glycogène chez *Oidium lactis* Fres., *Saccharomyces cerevisiae*, *S. Ludwigii*, *S. mycoderma*, *S. kefir*, *Endomyces albicans*, *Monilia candida* et chez *Ustilago*.

Il parle aussi de la conduite du glycogène dans la formation et la germination des spores chez les Levures.

Guilliermond (A.), Recherches cytologiques sur les Levures. (*Rev. gén. de Bot.*, **15**, 49, 104, 166 [1903].)

Oidium lactis (p. 58) renferme beaucoup de glycogène, *Dematium sp.* n'en possède qu'exceptionnellement.

Tout le glycogène disparaît quand les spores sont arrivées à maturité (p. 109).

Les Schizosaccharomycètes ne contiennent jamais de glycogène (p. 120, note).

Henneberg (W.), Note sur la présence du glycogène chez la Levure *Saccharomyces apiculatus*. (*Wochenschr. für Brauerei*, 1902, p. 781. Résumé dans *Ann. de Brasserie*, 25 janvier 1903.)

L'auteur a observé avec Lindner qu'il y a quelques races de Levure toujours exemptes de glycogène (Levure de lactoses, *Saccharomyces*

exiguus). Afin de rechercher de nouveaux exemples de ce fait, Henneberg a étudié les races de *Saccharomyces apiculatus,* qu'on rencontre sur les fruits et sur le raisin, en les cultivant d'abord dans du moût de bière non houblonné additionné de 10 % de dextrose. Après vingt-quatre heures, il n'y a pas de glycogène dans les cellules. Au bout de huit jours, il y en a dans quelques cellules isolées. L'auteur a varié les milieux de culture et employé les hydrates de carbone les plus divers, sans obtenir jamais plus de deux ou trois cellules sur quelques milliers où il fût possible de trouver du glycogène. Le *S. apiculatus,* auquel, comme on sait, on ne peut faire produire des spores, se comporte donc d'une manière exceptionnelle au point de vue de la fonction du glycogène.

JANSSENS (Fr.-A.) et LEBLANC (A.), Recherches cytologiques sur la cellule de Levure. (*La Cellule*, **14**, 203 [1898].)

« On sait depuis longtemps (p. 224) que les Levures renferment du glycogène. » Ils en avaient déjà parlé (p. 221, fig. 12), avec peu de compétence. Les quelques mots qu'ils y consacrent ne contiennent rien de neuf. En somme, ces auteurs n'ont pas fait l'essai par la chaleur et se bornent à indiquer dans la cellule une substance se colorant en brun-acajou par l'iode.

KAYSER (E.), Les Levures. Caractères morphologiques et physiologiques. Applications des Levures sélectionnées. Paris, 1897.

KOCH (A.) et HOSAEUS (H.), Das Verhalten der Hefen gegen Glykogen. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. u. Infektionskrankh.*, **14**, 145 [1894].)

KÜSTER (E.), Zur Kenntnis der Bierhefe. (*Biol. Centralbl.*, **18**, 305 [1898].)

L'auteur s'occupe surtout des granules existant dans les vacuoles de *Saccharomyces.*

KUTSCHER (Fr.), Chemische Untersuchungen über die Selbstgärung der Hefe. (*Zeitschr. für physiol. Chem.*, **32**, 54 [1901].)

LAURENT (E.), Ueber Glykogenbildung der Hefe. (*Ber. der deutsch. bol. Ges., Generalversammlungsheft*, **5**, LXXVII [1887].)

Laurent (E.), Sur les aliments organiques de la Levure de bière. (*Bull. Soc. roy. bot. de Belgique*, **27**, 127 [1888].)

Laurent (E.), Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez la Levure de bière. (*Ann. Inst. Pasteur*, **3**, 113 [1889].)

Laurent (E.), Recherches physiologiques sur les Levures. (*Ann. Soc. belge de Microsc.* (*Mémoires*), **14**, 31 [1890], et *Rec. Inst. bot. Univ. Bruxelles*, **1**, 135 [1905].)

L'auteur traite de la nutrition de la Levure, de l'assimilation des hydrates de carbone, etc.

Il indique du glycogène chez divers *Saccharomyces* et *Mycoderma*.

Sur le glycogène chez les formes-levures de *Cladosporium herbarum* (= *Dematium pullulans*), voy. *Ann. Soc. belge de Microsc.*, p. 108, ou *Rec. Inst. bot.*, p. 197.

Lindner (P.), Beobachtungen über die Sporen- und Glykogenbildung einiger Hefen auf Würzegelatine. Die Blaufärbung der Hefesporen von *Schizosaccharomyces octosporus* durch Jodlösung. (*Centralbl. f. Bakter.*, *Parasitenk. u. Infektionskrankh.*, II. Abt., **2**, 537 [1897].)

Les diverses sortes de *Saccharomyces* se conduisent diversement quant à la réaction de glycogène par IKI : chez certaines espèces presque tout le contenu de chaque cellule se colore en brun rouge; chez d'autres, il n'y en a que dans quelques cellules; ailleurs encore aucune réaction de glycogène. Ainsi *S. exiguus* et *S. membranaefaciens* ne se colorent qu'en jaune; dans les cultures jeunes de la première espèce, il n'y a pas non plus de glycogène; dans celles de la seconde, il y en a beaucoup.

Un Champignon, *Sarcinomyces albus*, donne une réaction de glycogène d'une intensité telle qu'elle n'était encore connue que chez des animaux, par exemple chez l'Anguillule du vinaigre.

Lindner (P.), Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefereinkultur und Infektionslehre. 3. Aufl. Berlin, 1902.

L'auteur dit (p. 334) : « Behandelt man nach J.-C. Lintner Hefe mit Kochsalz, so verschwindet das Glykogen allmählich, ohne dass eine

Selbstgärung eintritt. Dafür kann man im wässrigen Extrakt der Hefe einen Körper nachweisen, der sich wie Traubenzucker verhält. »

« Am Schluss der Hauptgärung ist die Hefe immer ziemlich reich an Glykogen. »

« Eine Jodlösung von 100 Wasser, 20 KI und 7 I gibt stets eine scharfe Reaktion, sofern überhaupt Glykogen vorhanden. »

Des Levures qui fermentent peu, telles que *S. Bailii,* renferment cependant beaucoup de glycogène, localisé en certains points de la cellule.

Dans l'autofermentation (p. 335) de la Levure et aussi quand on la conserve sous l'eau pendant longtemps, le glycogène disparaît. Dans les cellules mortes, le glycogène se conserve.

Dans les Levures du vin, Meissner a aussi trouvé le plus de glycogène à la fin de la fermentation principale.

En l'absence d'eau (dans une préparation microscopique vaselinée), la Levure meurt après quelque temps; mais quelques cellules demeurent vivantes et bourgeonnent abondamment; elles ont un plasma vivant, homogène, riche en glycogène. « Woher kommt dieses und welche Rolle spielt es bei fehlendem Sauerstoff? Solche Zellen in frische Würze gebracht sprossen schnell aus und verhalten sich wie junge Hefe. »

Cremer a montré que la Levure affamée reforme abondamment du glycogène en trois à quatre heures dans des solutions à 5–10 % de saccharose; un peu plus tard, dans des solutions de lévulose ou de saccharose; après deux jours, dans une solution de d-galactose et de d-mannose. Les solutions d'arabinose, rhamnose, sorbose, glycérine, sucre de lait n'en donnent pas. « Cremer ist neuerdings auch der Nachweis gelungen, dass der Buchnersche Hefepresssaft aus gärungsfähigem Zucker Glykogen zu bilden vermag. »

« Das Enzym, welches Glykogen hydrolisiert, ist nicht aus der Zelle ausziehbar. »

Lintner (C.-J.), Studien über die Selbstgärung der Hefe. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. u. Infektionskrankh.*, II. Abt., **5**, 793 [1899].)

Macallum (A.-B.), On the cytology of non-nucleated organisms. (*Univ. of Toronto Studies, Physiol. Series,* N° 2, 1900.)

« In the cytoplasm (p. 56) as Errera (*Rep. Brit. Ass.*, 1898, p. 1068) has shown, may be found glycogen, and it occurs in abundance in the cells of the later stages of fermentation. When iodine solution is applied



to the cells from Pasteur solutions in the first nine hours after fermentation begins, very rarely only does it show the presence of glycogen, and then only in the form of minute granules. The slight brown tint which the cytoplasm in general at this time gives is due to the absorption of iodine by the cytoplasmic chromatin, and is not due to dissolved glycogen. In cells of from ten to thirteen hours of cultivation in Pasteur solutions the glycogen occurs in small masses in the cell. These masses, of which there is usually one to each cell, vary in size, and are more or less irregular in outline and placed adjacent to the cell membrane. In later stages the glycogenic mass may be so large as to occupy the greater part of the cell. »

MEISSNER (R.), Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. u. Infektionskrankh.*, II. Abt., **6**, 517, 545 [1900].)

Le point de départ de ce travail est une observation de Wortmann, que certaines races de Levure dégagent dans la fermentation plus de CO_2 qu'il ne devrait y en avoir d'après la théorie. Wortmann était d'avis que ce CO_2 provenait de l'oxydation des réserves — glycogène et graisse — de la cellule de Levure. De même, il a parfois trouvé dans un vin plus d'alcool que ne répondait au sucre : cela était dû probablement à l'autofermentation (« Selbstgärung ») des réserves de la Levure.

Meissner recherche quand le glycogène apparaît dans les cellules de Levure, quand la teneur en est maximum, quand il commence à en disparaître.

« Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle sind bereits im Jahre 1892 von H. Will interessante Angaben gemacht worden. » Will montre que les cellules très jeunes ne renferment pas de glycogène, et pendant ce temps les cellules mères qui leur donnent naissance perdent peu à peu celui qu'elles renfermaient. Après vingt-quatre heures, la jeune cellule commence à accumuler du glycogène et s'en remplit de plus en plus. « Will macht dann die Beobachtung, dass sich bei der allmählichen Verteilung der IKI Lösung unter dem Deckglas einzelne Hefezellen ohne Vacuolen sofort sehr intensiv rotbraun färben, bevor noch an den übrigen die braunviolette Färbung deutlich wahrnehmbar ist. » Enfin, Will a vu que, dans l' « autophagie » de la Levure, le glycogène disparaît peu à peu. Les cellules, dans de vieux dépôts de Levure, qui se colorent encore en rouge brun par l'iode, étaient mortes depuis longtemps et, pour cette raison, n'ont pas consommé leur glycogène.

Les résultats de P. Lindner concordent tout à fait avec ceux de Will. Lindner dit : « Die Forschung müsste in der nächsten Zeit dem Glykogen eine grössere Beobachtung schenken ».

Les recherches de Meissner ont porté sur vingt-huit races de Levure de vin, qu'il énumère. Au début de la fermentation, les cellules jeunes se colorent seulement en jaune (« Gelbfärbung ») par une solution diluée de IKI. Au contraire, si l'on tue d'abord les cellules en les chauffant sur la lame, « alsdann trat mit derselben schwachen Jodlösung momentan Rothbraunfärbung des Zellinnern ein. Diese Erscheinung beruht offenbar darauf, dass lebenskräftige Sprossen der Hefe gegen die Einwirkung des Jods eine grössere Widerstandskraft als Hefe im toten Zustande besitzt, und dass das Plasma erst für Jod durchlässig sein muss, ehe die Glykogenreaktion eintreten kann. » [Cette explication est peu plausible; car si le protoplasme était resté vivant dans la solution d'iode, il ne se colorerait pas même en jaune. L. E.]

Si l'on emploie une solution forte d'iode (7 gr. I, 20 gr. KI, 100 gr. H_2O), on obtient tout de suite une réaction de glycogène dans les cellules bourgeonnantes de toutes les vingt-huit races étudiées (de Levure de vin; pour celles de bière, il ne les a pas étudiées). Les jeunes cellules qui n'ont encore qu'un cinquième de la longueur de la cellule mère prennent par la solution d'iode concentrée « nahezu dieselbe Rothbraunfärbung wie die Mutterzelle. Nur die ganz kleinen Sprösschen, die eben erst als kleine Ausstülpungen an der Mutterzelle sichtbar wurden, erschienen gelbgefärbt ». [L'auteur perd de vue qu'avec sa forte solution d'iode les différences de teinte dues à la richesse en glycogène n'apparaissent plus. L. E.]

Dans les Levures en pleine fermentation, on voit chez certaines races les cellules se colorer d'abord en jaune, puis tout de suite en brun foncé; chez d'autres races, il y a d'abord coloration jaune et seulement après quelque temps coloration brune.

La plupart des races n'ont pas de vacuoles dans les cellules en pleine fermentation; dans quelques races il y en a encore.

Gontscharuk a fait des expériences pour déterminer le moment du maximum du glycogène. Il convient de caractériser ce moment par la proportion d'alcool produit, le nombre de jours étant trop dépendant de la température, etc. En prélevant des gouttes du liquide et en déterminant à quel moment la coloration par l'iode y est le plus brune, Gontscharuk arrive à la conclusion « dass in dem gegebenen Falle die Hefezellen am reichlichsten Glykogen aufgespeichert hatten, als der Wein 5.45 bis 5.76 Gewichts-Prozente Alkohol enthielt, d. h. am Schlusse der Hauptgärung ».

Après cela « lässt sich mikrochemisch eine Abnahme des Glykogen-



gehaltes in der Hefezelle nachweisen ». La diminution du glycogène commence à un moment où il reste encore un peu de sucre dans le moût.

« Die Hefezellen der Sprossverbände in hungernden Trubs zeigen auf Jodzusatz meist reichen Glykogengehalt, so dass es fast den Anschein hat, als ob die Hefe auch aus organischen Säuren Glykogen zu bilden imstande ist. »

« In hungernden Trubs » on remarque que les cellules de Levure en repos donnent tout de suite la réaction de glycogène, même en présence d'une solution d'iode faible, tandis que les cellules encore en activité de fermentation tardent longtemps à donner la réaction rouge brun. Il pense que le protoplasme des premières est moins résistant contre l'iode que celui des secondes.

L'auteur conclut : « Zusammenfassend gesagt, tritt also das Glykogen bereits in den jungen Sprossen der Hefezelle auf, wenn dieselben etwa $^1/_5$ Längendurchmesser der Mutterzelle erreicht haben. Es wird dann Glykogen in den Zellen aufgespeichert, bis sich am Schlusse der Hauptgärung ein Maximalgehalt an Glykogen darin nachweisen lässt. Nachdem die Hauptgärung des Weines vorüber ist, lässt sich mikrochemisch eine Abnahme des Glykogengehaltes in den Hefezellen constatiren und zwar schon zu einer Zeit, in welcher noch geringe Mengen Zucker in der gärenden Flüssigkeit vorhanden sind. Das Verschwinden des Glykogens vollzieht sich bei den verschiedenen Heferassen verschieden schnell. In stark hungernden Trubs findet man immer noch eine Anzahl Hefezellen, deren Glykogengehalt unter Umständen noch ein beträchtlicher ist.

» Nach Cremer's Untersuchungen vermag Hefepresssaft Glykogen aus vergärbarem Zucker zu bilden.

» Nach Koch und Hosaeus vermag intakte lebende Hefe der Nährlösung zugesetztes Glykogen weder zu assimilieren noch vergären. Das erklärt sich daraus, dass einerseits Glykogen nicht durch die Membran der Hefezelle diffundieren kann und andererseits die Hefe keinen Stoff ausscheidet, welcher das Glykogen in diffundierenden, vergärbaren Zucker verwandelt. » Mais Buchner a montré en 1898 que du suc de Levure (« Hefepresssaft ») fait fermenter du glycogène. D'où il faut conclure que la cellule de Levure contient un agent hydrolysant non diffusible au dehors.

« Zusammenfassend müssen wir also annehmen, dass das Plasma der Hefezelle Stoffe enthält, welche aus vergärbarem Zucker Glykogen bilden, ferner Stoffe, die wie Diastase wirken, d. h. das Glykogen in vergärbaren Zucker überführen und endlich Stoffe (Zymase), welche diesen aus dem Glykogen gewonnenen Zucker in Alkohol und Kohlensäure zerlegen.

Reess (M.), Ueber die systematische Stellung der Hefepilze. (*Biol. Centralbl.*, **4**, 481 [1884].)

L'auteur parle (p. 383) d'un « épiplasme » chez les *Saccharomyces* et les *Exoascus*. Il ne dit pas quelle réaction cet épiplasme donne avec l'iode.

Salkowski (E.), Ueber die Kohlehydrate der Hefe. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **27**, 497, 3325 [1894].)

Salkowsky (E.), Notiz über das Hefegummi. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **27**, 925 [1894].)

Schiönning (H)., Nouveau genre de la famille des Saccharomycètes. (*Comptes rendus Lab. Carlsberg*, **6**, 103 [1903].)

L'auteur dit de ce Saccharomycète : Aux diverses phases de l'évolution, on a ajouté de l'iodure de potasse iodé en dilution sans jamais observer la coloration rouge brun qui caractérise le glycogène.

Il range aussi dans ce genre nouveau le *Cryptococcus guttulatus* = *Saccharomyces guttulatus*, étudié par Buscalioni; il l'appelle *Saccharomycopsis guttulatus*.

Wager (H.), The nucleus of the Yeast-plant. (*Ann. of Bot.*, **12**, 499 [1898].)

L'appareil nucléaire (p. 516) comprend d'abord un « corps nucléaire » arrondi et homogène, colorable par la fuchsine ou l'hématoxyline, ne manquant qu'aux tout jeunes bourgeons, et comparable au nucléole des plantes supérieures; souvent il est plus ou moins entouré des granules réfringents, vus par Hieronymus, et de nature probablement huileuse et protéique. Outre le corps nucléaire, il y a dans toutes les espèces de Levures que l'auteur a étudiées, une vacuole contenant une substance colorable et qui semble faire partie de l'appareil nucléaire. C'est cette vacuole qui a été décrite comme noyau par Janssens et Leblanc dans les cellules jeunes, tandis que dans les cellules âgées, ils ont pris pour tel le corps nucléaire. Wager appelle cette vacuole « vacuole nucléaire » et la distingue des « vacuoles à glycogène ». Le corps nucléaire est toujours en contact étroit avec la vacuole nucléaire, et ce contact persiste malgré les déplacements dans la cellule. « It seems likely that as the cells become

older, the contents of the vacuole may in part become absorbed into the nuclear body. » Le contenu colorable de cette vacuole forme tantôt un réseau, tantôt des granules. Ce contenu paraît de la chromatine, colorable par le vert de méthyle et insoluble dans le suc gastrique. « In some cells all the chromatine substance appears to reside in the vacuole, in others it is diffused through the protoplasma, and in some cells it appears in the nuclear body. » Quand la fermentation avance, la vacuole nucléaire disparaît de plus en plus.

Elle provient de la fusion de plusieurs petites vacuoles de la cellule jeune. Celles-ci proviennent probablement des granules du protoplasme.

La vacuole à glycogène est d'abord diffuse dans le protoplasme, puis elle s'accumule dans une vacuole spéciale. « It never appears, or only to a slight extent, in the nuclear vacuole. »

Double coloration nucléaire et glycogénique.

WARD (MARSHALL), The Gingerbeer-plant and the organisms composing it. A contribution to the study of Fermentation-Yeast and Bacteria. (*Phil. Trans. roy. Soc. London*, **183**, 125 [1892].)

Sur le glycogène chez une Levure, voy. pl. 11, fig. 2.

WILL (H.), Die Hefenzelle, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien der Entwicklung und des Zerfallens unter dem Mikroskop. (*Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung*, 2. Festblatt, 1892, p. 1088].)

L'auteur décrit (p. 1088) l'aspect des cellules de Levure basse, à la fin d'une fermentation. « Das Plasma enthält in dem vorliegenden Stadium der Hefenzelle beträchtliche Mengen eines Körpers, welcher von grosser Bedeutung für die Zelle ist und sehr leicht auch auf mikrochemischem Wege nachgewiesen werden kann. » Il indique la réaction rouge brun du contenu de la cellule par IKI, l'action de la chaleur et l'écrasement. « Das Protoplasma einzelner Hefenzellen färbt sich bei der Jodreaktion nur goldgelb, ähnlich wie nach Entfernung der rothbraun reagierenden Substanz. »

« Bei der allmähligen Vertheilung der Jodjodkaliumlösung unter dem Deckglas beobachtet man, dass sich einzelne Hefenzellen ohne Vacuolen sofort sehr intensiv rothbraun färben, bevor noch an den übrigen die braunviolette Färbung deutlich wahrnehmbar ist. » Cette substance « gleicht nach den Untersuchungen von Errera in ihren Eigenschaften dem Glykogen ».

« Wird dickbreiige Hefe bei gewöhnlicher Temperatur sich selbst überlassen, so tritt bekanntlich Selbstgärung unter Entwicklung von Alkohol und Kohlensäure ein. Die gleiche Erscheinung findet bei Aufbewahrung der Hefe unter Wasser, wenn auch viel langsamer, statt. Dabei mindert das Glykogen anfangs schnell, später langsam ab, bis das Protoplasma der Zellen auf Jod nur mehr mit goldgelber Farbe reagirt. Dabei treten die kleinen, das Licht noch stärker als das Glykogen brechenden Tröpfchen im Plasma der Zelle, welche bei Entnahme der Hefe aus dem Bottich nur in geringer Anzahl vorhanden waren, in reichlicher Menge auf. Die Vermehrung derselben steht offenbar mit dem allmähligen Verschwinden des Glykogens im Zusammenhang. Die chemische Natur dieser Tröpfchen ergibt sich bei Zusatz von Osmiumsäure zu einem Präparat : sie färben sich nach ihrer Grösse gelb- bis schwarzbraun, wie fette und ätherische Oele; es sind also Fetttröpfchen. »

Si l'on remet des cellules de Levure de la fin de la fermentation dans du moût de bière frais, on y observe des changements successifs, identiques à ceux qui se produisent aussi dans la cuve, mais dans celle-ci ils se font plus lentement à cause de la température plus basse.

D'abord, après deux heures à la température ordinaire, le contenu des cellules est devenu plus pâle, par suite de l'absorption d'eau ; en conséquence, les vacuoles sont aussi moins apparentes.

Après trois heures, il y a sur les cellules maternelles les premiers débuts de bourgeonnement. « Einzelne der jungen Tochterzellen sind schon zu einem kleinen, etwa 1 Mikromillimeter grossen Knöpfchen mit ziemlich feinschaumigem Inhalte herangewachsen. Das ebenfalls vielfach feinschaumig gewordene Protoplasma der Mutterzelle ist von sehr viel Fetttröpfchen durchsetzt und gibt mit Jod noch die Glykogenreaction, aber etwas schwächer als ursprünglich. Die junge Tochterzelle reagirt dagegen auf Jod nur mit gelber Farbe. »

Après cinq heures environ, les cellules filles ont atteint environ la moitié ou le tiers de la grandeur de la cellule maternelle et contiennent un protoplasme écumeux, vacuoleux, renfermant beaucoup de gouttelettes d'huile. La cellule mère « reagirt jetzt auf Jod nur mehr mit gelber Farbe, höchstens liegt noch ein schwacher bräunlicher Farbeton über dem Plasma. Das als Reservestoff aufgehäufte Glykogen ist also als solches verschwunden, es ist zum Aufbau der Tochterzellen, deren Inhalt ebenfalls nur eine Gelbfärbung annimmt, verwendet worden. Der Zeitpunkt, zu welchem das Glykogen vollständig verschwunden ist, kann natürlich, je nach der Menge des angehäuften Reservestoffes, früher oder später eintreten. Das Plasma der Mutterzelle ist, wie sich bei der Jodreaktion ergibt, sehr stark reducirt ».

Après neuf à dix heures, il y a des chapelets ayant jusqu'à neuf cellules;

après vingt-quatre heures, des chapelets de seize cellules et davantage, chez lesquels les cellules les plus anciennes ont atteint les dimensions de la cellule mère.

« In fast sämmtlichen Zellen dieser Sprossverbände ist eine grössere Anzahl von Vacuolen deutlich sichtbar. Die jüngsten Glieder derselben sind von sehr vielen kleinen Vacuolen durchsetzt. Das Polioplasma ist körnig-schaumig. Die grossen Vacuolen zeigen häufig unregelmässige Conturen und sind scheinbar von Strängen durchzogen. Es wird die Verschmelzung mehrerer Vacuolen zu einer einzigen eingeleitet. Setzen wir jetzt Jodlösung zum Präparat, so kommt an sämmtlichen Zellen der grossen Sprossverbände die Glykogenreaktion wieder zum Vorschein, und zwar tritt die rothbraune Färbung entweder nur an einzelnen, engumgrenzten Stellen auf, oder das Körnerplasma ist schon in seiner ganzen Ausdehnung mehr oder weniger rothbraun gefärbt. Die Hefenzelle beginnt also den Reservestoff wieder aufzuspeichern.

» Werden die Beobachtungen noch einige Stunden hindurch fortgesetzt, so findet man, dass die Sprossverbände zerfallen. Das Polioplasma nimmt wieder an Ausdehnung zu, es wird homogen und glänzend und gibt mit Jod eine gleichmässig ausgebreitete intensive Glykogenreaktion. Ausserdem tritt eine weitgehende Verschmelzung kleiner, nahe bei einander liegender Vacuolen auf. Hierdurch entstehen sehr grosse Safträume, welche zuweilen über die Hälfte des Binnenraumes der Zelle einnehmen; sie heben sich scharf von dem dichter gewordenen stark lichtbrechenden Plasma ab. In der Umgebung der grossen Vacuolen finden wir auch in geringer Anzahl wieder Fetttröpfchen vor. »

Peu à peu la Levure épuise le milieu et finit par mourir de faim : le glycogène disparaît complètement, le plasma se réduit, les vacuoles augmentent de volume, des gouttelettes réfringentes deviennent de plus en plus nombreuses, tant dans le plasma que dans les vacuoles : ici elles sont animées de mouvements vifs de fourmillement (« wimmelnd »).

« Der Inhalt gibt in diesem Stadium noch immer die Eiweissreaktionen und auch die stark lichtbrechenden Tröpfchen färben sich mit Jod noch gelb. » Ces gouttelettes se colorent en brun noir par l'acide osmique, en rouge par l'alcanna, et se dissolvent à la longue dans l'alcool, l'éther, etc. : c'est de l'huile, mêlée d'un peu de matière albuminoïde. « Die Zelle wird also immer ärmer an plasmatischen Bestandtheilen, während der Fettgehalt zunimmt. »

Dans de vieilles cultures, on remarque parmi les cellules dont il vient d'être question, à contenu très réduit, un nombre plus ou moins grand de cellules à contenu très réfringent, remplissant toute la cavité cellulaire. « Der fast homogene, vacuolenlose Inhalt ist von einer schmalen, oft eben noch erkennbaren dichteren Schichte begrenzt, welche meist in

ziemlich gleichbleibender Breite der Zellmembran anliegt. An einzelnen Stellen jedoch, bald seitlich, bald an einem der Pole der Zelle, wird sie dicker und ragt nicht selten als zackiger oder als halbkugelförmiger Vorsprung in das Innere der Zelle hinein. Bei Zusatz von Jod zum Präparat färbt sich der Inhalt dieser Zellen mit Ausnahme der dichteren Substanz sofort intensiv rothbraun, derselbe ist also von Glykogen durchsetzt; die dichtere Substanz ist dagegen nur gelb gefärbt. Auf Eiweiss reagirt der Inhalt meist nur schwach. Fetttröpfchen sind in der Regel in grösserer Menge vorhanden. Nach ihrem ganzen Aussehen machen diese Zellen den Eindruck, als ob sie noch lebensfähig wären. Thatsächlich sind sie jedoch todt; sie speichern sofort verdünnte Anilinfarblösungen auf, und auch der Keimversuch lässt keinen Zweifel hierüber aufkommen. Es liegen hier Zellen vor, welche zu einer Zeit, als sie noch dicht mit Glykogen erfüllt waren, abstarben. Die gleichen Zellen finden wir meist in geringer Anzahl schon in der dem Bottich unmittelbar nach beendigter Hauptgärung entnommenen Hefe wieder vor; es sind dies diejenigen, welche sich bei Jodzusatz sofort intensiv rothbraun färben. Der Inhalt dieser mit Glykogen erfüllten, todten Zellen zerfällt sehr langsam; man findet dieselben in wenig verändertem Zustande noch in mehrere Jahre alten Culturen vor. »

WORTMANN (J.), Untersuchungen über reine Hefen. I. Theil. (*Landwirtsch. Jahrb.*, **21**, 901 [1892].)

b. AUTRES ASCOMYCÈTES.

ASO (K.), The chemical composition of the spores of *Aspergillus Oryzae*. (*Bull. Coll. of Agric. Univ. Tokio*, **4**, 81 [1900].)

L'auteur dit : « I tested the spores as well as the mycelium of the Fungus with iodine solution under the microscope; no blue, but the characteristic dark brown colour for glycogen was observed. »

Il a aussi obtenu de ces spores quelques cristaux de tréhalose et de la mannite.

BARY (A. DE), Ueber einige Sclerotinien und Sclerotienkrankheiten. (*Bot. Zeitung*, **44**, 377, 393, 409, 433, 449, 465 [1886].)

L'auteur mentionne la présence de glycogène dans le *Peziza sclerotiorum*.

Belzung (E.), Anatomie et physiologie végétale.

L'auteur parle de « grains de glycogène » bleuissant ou rougissant par l'iode qui se produiraient lors de la germination du sclérote de *Claviceps purpurea* (pp. 119, 1193).

Bommer (Ch.), Sclérotes et cordons mycéliens. (*Mém. cour. par l'Acad. roy. de Belgique*, **54** [1894].)

L'auteur indique du glycogène et de la cellulose chez *Xylaria Tulasnei, Xylaria vaporaria, Phallus impudicus, Polyporus umbellatus;* du glycogène chez *Isaria densa, Sclerotium stipitatum;* de l'huile chez *Collybia tuberosa;* des réserves cellulosiques dans plusieurs autres cas.

Bourquelot (E.), Sur les matières sucrées contenues dans les Champignons. Nouvelles recherches. (*Bull. Soc. myc. France*, **8**, 196 [1892].)

L'auteur s'occupe de *Sclerotinia tuberosa* et de *Claviceps purpurea* et a trouvé :

		Mannite °/₀₀.	Tréhalose °/₀₀.
		—	—
Sclerotinia tuberosa :	sclérotes d'hiver . . .	4.3	0
Id.	sclérotes végétants. .	8.0	2.6
Id.	pezize et pédicule . .	7.9	traces.
Claviceps purpurea :	desséché	traces.	10.2

Clauszen (P.), Zur Entwickelungsgeschichte der Ascomyceten. *Boudiera*. (*Bot. Zeitung*, **63**, 1 [1905].)

Chez cet Ascomycète, l'auteur indique que l'asque jeune contient beaucoup de glycogène.

Fernbach (A.), Sur le dosage de la sucrase; 3ᵉ mémoire : Formation de la sucrase chez l'*Aspergillus niger*. (*Ann. Inst. Pasteur*, **4**, 1 [1890].)

L'auteur indique la réaction de glycogène chez *Aspergillus niger*.

Fayod (V.), Notes sur quelques Champignons parasites nouveaux ou peu connus. (*Ann. sc. nat.*, [7], **2**, 28 [1885].)

L'auteur indique du glycogène dans les cellules du sclérote de son

Peziza mycetophila Fayod. Mais comme il a fait agir la teinture d'iode, sans chauffer ensuite, sa détermination n'est pas tout à fait certaine.

Ce sclérote est, d'après Fayod, très voisin de celui du *Rhizoctonia muscorum*.

Fisch (C.), Ueber die Pilzgattung *Ascomyces*. (*Bot. Zeitung*, **42**, 33, 49 [1885].)

L'auteur indique dans l'asque de l'*Ascomyces endogenus* une substance réfringente homogène qui est très probablement du glycogène. Le contenu de l'asque se colore en brun foncé par l'iode.

Giard (A.), L'*Isaria densa* (Link) Fries, Champignon parasite du Hanneton commun (*Melolontha vulgaris* L.). (*Bull. scient. de la France et de la Belgique*, **24**, 1 [1893].)

L'auteur indique (p. 20) dans les hyphes du sclérote des calottes réfringentes (pl. III, fig. 1, 2) donnant les réactions du glycogène et qu'il considère comme les réserves du Champignon. De ces réserves glycogéniques paraissent dériver des gouttelettes graisseuses.

Guilliermond (A.), Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons. (*Annales Mycologici*, **1**, 201 [1903].)

L'auteur indique, chez *Ascobolus marginatus*, du glycogène, qui se forme dans le cytoplasme de l'asque et entoure les spores; la distinction en épiplasme et sporoplasme n'y est pas très nette. Dès la formation des ornements de la membrane, les corpuscules métachromatiques qui, jusqu'alors, entouraient les spores, disparaissent complètement ainsi que le glycogène. Il indique un peu de glycogène aux deux pôles, dans les spores adultes.

D'autres Ascomycètes renfermant du glycogène sont : *Amauroascus sp.*, *Exoascus deformans*, *Taphrina aurea*, *Peziza coccinea*, *Otidea leporina* et *Peziza vesiculosa*.

Guilliermond (A.), Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes. (*Comptes rendus*, **136**, 253 [1903].)

Guilliermond (A.), Nouvelles recherches sur l'épiplasme des Ascomycètes. (*Comptes rendus*, **136**, 1487 [1903].)

GUILLIERMOND (A.), Contribution à l'étude cytologique des Ascomycètes. (*Comptes rendus*, **137**, 938 [1903].)

Les corpuscules métachromatiques se comportent décidément comme des matières de réserve.

Chez les Helvelles (*H. sulcata, H. elastica*), il y a du glycogène, des corpuscules métachromatiques et de l'huile. Il dit aussi quelques mots de « l'amyloïde », qui forme un anneau à la partie supérieure des asques de *Peziza vesiculosa, P. venosa*, etc.

LABORDE (J.), Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle, l'*Eurotiopsis Gayoni*. (*Ann. Inst. Pasteur*, **11**, 1 [1897].)

Ce Champignon est remarquable par sa préférence pour l'alcool éthylique comme aliment carboné. Il contient du glycogène, surtout si le Champignon a été cultivé dans de mauvaises conditions, retardant sa croissance. Il peut former du glycogène au moyen de mannite, glycérine, etc. Dans certains cas, il forme aussi dans le liquide de culture un hydrate de carbone soluble et bleuissant par l'iode.

MATTIROLO (O.), Funghi ipogei italiani. 1903.

L'auteur indique du glycogène chez *Stephensia bombycina* Tul., *Tuber aestivum* Vitt. et *Tuber Magnatum* Pico.

SEYNES (J. DE), Recherches pour servir à l'histoire naturelle des végétaux inférieurs. III. Paris, 1886.

L'auteur indique une réaction de glycogène dans les asques de *Peziza melastoma;* seulement, il s'est servi de ClZnI.

SOLMS LAUBACH (H. ZU), *Penicilliopsis clavariaeformis*, ein neuer javanischer Ascomycet. (*Ann. Jard. bot. Buitenzorg*, **6**, 53 [1887].)

L'auteur dit (p. 61) qu'il n'a jamais obtenu de réaction d'épiplasme, par l'iode, dans les asques de *Penicilliopsis :* la coloration par l'iode est simplement jaune.

STRASBURGER (E.), Das botanische Practicum. 3e édit., Iena, 1897.

L'hyménium d'*Ascobolus furfuraceus* se colore en bleu par une solution de IKI. La réaction de glycogène de l'épiplasme y est peu marquée (p. 464).

TERNETZ (CHARLOTTE), Protoplasmabewegung und Fruchtkörperbildung bei *Ascophanus carneus* Pers. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **35**, 273 [1900].)

L'auteur a vu du glycogène en abondance chez ce Champignon. Elle indique les substrats qui en donnent, et ayant vu les « gemmes » contenir du glycogène, même après une longue culture dans l'eau distillée, trouve que cela ne concorde pas avec mes idées sur le rôle de réserve du glycogène. [C'est comme si l'on s'étonnait qu'une graine, qui n'a pas encore germé, continue à renfermer son amidon ou son huile.]

WORONIN (M.), Zur Entwickelungsgeschichte des *Ascobolus pulcherrimus* Cr. und einiger Pezizen. (De Bary et Woronin, *Beitr. z. Morphol. u. Physiol. der Pilze*. II. Reihe, 1866.)

WORONIN (M.), *Sphaeria Lemaneae, Sordaria fimiseda, Sordaria coprophila, Arthrobotrys oligospora*. (*Ibidem*, III. Reihe, 1870.)

WORONIN (M.), Ueber die Sclerotienkrankheit der Vaccinien-Beeren. (*Mém. Acad. Saint-Pétersbourg*, **36**, 3 [1888].)

Voyez sur le glycogène et la structure des asques chez les *Sclerotinia* des *Vaccinium*, page 16 et passim.

WORONIN (M.), Die Sclerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche (*Sclerotinia Padi* und *Scl. Aucupariae*). (*Mém. Acad. impér. Saint-Pétersbourg* [7], **2** [1895].)

L'auteur indique la réaction de glycogène (épiplasme) dans les asques de *Sclerotinia Padi*. Des gouttelettes se trouvent dans les spores, se colorant en brun rouge par l'iode. Le contenu des « gonidies » de *Sclerotinia Padi* se colore en jaune par l'iode; leur membrane en bleu très pâle.

C. ASCOLICHENS.

BARY (A. DE), Ueber die Keimung einiger grosssporiger Flechten. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **5**, 201 [1866-1867].)

Coloration rouge brun du protoplasme des spores d'*Ochrolechia pallescens* Mass., traitées par l'iode (p. 211).

LINDAU (G.), Ueber die Anlage und Entwicklung einiger Flechten-apothecien (*Flora*, **71**, 451 [1888].)

L'auteur indique des filaments ascogènes se colorant en brun par IKI, mais il ne dit pas que ce soit du glycogène.

NYLANDER (W.), Synopsis methodica Lichenum. I. Paris, 1858.

Le protoplasme des asques d'*Ephebe pubescens* Fr. brunit par l'iode (p. 90).

NYLANDER (W.), Additamentum in floram cryptogamicam Chilensem, quo Lichenes praecipue saxicolae exposae sunt. (*Ann. sc. nat.* [4], **3**, 145 [1855].)

Chez *Myriangium Duriaci* Mont. et Berk., le protoplasme des asques devient brun vineux par l'iode (p. 146); chez *Arthonia spilomatoides* Nyl. (p. 169) et *Chiodecton stalactinum* Nyl. (p. 173), il devient rouge vineux.

SCHULTZE (F.), Zur Anatomie der Flechtengattung *Usnea*. (*Beih. z Bot. Centralbl.*, **18**, 2. Abt., 1 [1905].)

Chez *Usnea microcarpa* Arnold, il y a, dans la partie inférieure de la couche de paraphyses, des hyphes ascogènes à contenu se colorant en brun rouge par l'iode, « wahrscheinlich glykogenhaltig ».

Dans l'écorce, il y a de véritables ascogones, à cellules courtes, épaisses, à contenu se colorant en rouge brun intense par l'iode, « daher wohl glykogenhaltiger Inhalt ».

« Schon in der jüngsten, von mir untersuchten Anlage des Apotheciums sind eine Anzahl von Ascogonen vorhanden, welche die Gestalt eingerollter, bisweilen spiraliger Fäden zeigen und sich durch Jodlösung intensiv rothbraun färben. »

SCHWENDENER (S.), Ueber die Entwickelung der Apothecien von *Coenogonium Linkii*, mit Berücksichtigung der Darstellung Karstens. (*Flora*, **45**, 225 [1862].)

Coloration brun foncé, communiquée par l'iode au contenu des filaments ascogènes (p. 231).

TULASNE (L.), Mémoire sur les Lichens. (*Ann. sc. nat.* [3], **17** (1852].)

Le protoplasme des stylospores d'*Abrothallus Smithii* Tul. rougit par l'iode (p. 114).

3. **Basidiomycètes.**

BURT (E. A.), The Phalloideae of the United States, III. On the physiology of elongation of the receptaculum. (*Bot. Gazette*, **24**, 73 [1897].)

FISCHER (ED.), Beiträge zur Kenntnis exotischer Pilze. Theil II. *Pachyma Cocos* und ähnliche sclerotienartige Bildungen. (*Hedwigia*, 1891, p. 61.)

L'auteur indique dans *Polyporus sacer* des éléments plus ou moins sphériques, à membrane épaisse et à contenu volumineux se colorant intensivement en brun jaunâtre par l'iode.

ISTVANFFI (GY. V.), Untersuchungen über die physiologische Anatomie der Pilze mit besonderer Berücksichtigung des Leitungssystems bei den Hydnei, Telephorei und Tomentellei. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **29**, 391 [1896].)

MAIRE (R.), Recherches cytologiques et taxinomiques sur les Basidiomycètes. (*Thèse Fac. des Sc. Paris*, 1902, et *Bull. Soc. mycol. France*, **18**, annexe au 4e fasc. [1902].)

L'auteur s'occupe surtout des phénomènes nucléaires.
Il indique du glycogène chez *Collybia tuberosa* Fr. (p. 138).

MASSEE (G.), On the differentiation of tissues in Fungi. (*Journ. roy. microsc. Soc.*, 1887, p. 205.)

L'auteur indique du glycogène dans les cystides chez *Agaricus bombycinus*.

MASSEE (G.), A monograph of the Thelephoreae. (*Journ. Linnean Soc. London*, **25**, 107 [1889].)

PETRI (L.), Descrizione di alcuni Gasteromiceti di Borneo. (*Malpighia*, **14**, 111 [1900].)

L'auteur donne quelques réactions sur le glycogène chez des Gastromycètes de Bornéo (p. 116).

Scofield (C. S.), Some preliminary observations on *Dictyophora Ravenelii* Burt. (*Minnesota bot. Stud.*, 2ᵉ sér., **4**, 525 [1900].)

L'auteur indique (p. 528) que les jeunes tubercules, à tissu homogène, de cette Phalloïdée donnent très nettement les réactions du glycogène : « a large portion of the cell contents of the tuber is glycogen ».

Van Bambeke (Ch.), Le *Coccobotrys xylophilus* (Fr.) Boud. et Pat. (= *Cenococcum xylophilum* Fr.) est le mycélium du *Lepiota meleagris* (Sow.) Sacc. (*Bull. Soc. roy. de bot. de Belgique*, **39**, 81 et 85 [1900].)

C'est une comparaison surtout histologique. Cependant l'auteur mentionne l'existence de glycogène dans les « cellules scléreuses » des grains mycéliens de *Lepiota meleagris* et celle d'un contenu colorable en brun jaunâtre par l'iode dans le sclérote de *Polyporus sacer*.

Van Bambeke (Ch.). Le mycélium de *Lepiota meleagris* [Sow.] Sacc. (*Coccobotrys xylophilus* [Fr.] Boud. et Pat.). (*Mém. 4° Acad. roy. de Belgique*, **54** [1902].)

Dans les cellules scléreuses de ce mycélium, Boudier et Patouillard indiquent que les masses agglomérées de protoplasme « se colorent à l'iode comme le glycogène ».

Van Bambeke (p. 37) a vu que les jeunes cellules ont un contenu colorable en jaune par IKI; ailleurs, il prend un ton jaunâtre; enfin, dans la masse protoplasmique ainsi colorée, apparaissent souvent, en nombre variable, des éléments généralement sphériques d'un brun-acajou foncé (pl. IV, fig. 6); la préparation ayant été chauffée à 60° C. dans les conditions indiquées par L. Errera, nous avons vu persister la coloration après refroidissement; il s'agirait donc, dans ce cas, mais dans ce cas seulement, de la présence de glycogène.

Par leur aspect (p. 39) et leur structure, les sphérules du contenu de certaines cellules scléreuses rappellent une réserve très répandue chez les Protozoaires et particulièrement chez les Grégarines. Or, cette réserve, voisine à la fois de l'amidon et du glycogène, et qui n'est autre que le paraglycogène de Bütschli, se colore en brun violet par l'iode ioduré. N'est-il pas permis d'en conclure que dans nos préparations traitées par ce réactif, les éléments généralement sphériques fortement colorés, sans l'être toutefois en brun violet, correspondent aux sphérules rendues visibles après double coloration par l'hématoxyline et l'éosine?

4. Hyphomycètes.

Baccarini (P.), Sopra un curioso Cecidio della *Capparis spinosa* L. (*Malpighia*, **7**, 405 [1893].)

L'auteur mentionne du glycogène chez une sorte de *Cladosporium* parasite du *Capparis spinosa*.

Fayod (V.), Notes sur quelques Champignons parasites nouveaux ou peu connus. (*Ann. sc. nat.* [7], **2**, 28 [1885].)

L'auteur indique du glycogène dans *Monilia albo-lutea* (p. 46).

Guilliermond (A.), Recherches sur la structure de quelques Champignons. (*Comptes rendus*, 21 janvier 1901.)

L'auteur a observé dans les cellules de *Dematium* et d'autres moisissures des granulations qu'il assimile aux « grains rouges » de Bütschli et aux granulations nucléaires de Wager. Mais pour lui elles ne font pas partie du noyau.

Le *Dematium* ne présente jamais de glycogène; d'autres Champignons qui en contiennent au contraire une forte proportion, sont généralement plus pauvres en granulations; peut-être y aurait-il compensation. « Presque tous les Champignons inférieurs (moisissures, levures, etc.) possèdent des granules de forme très variable, dont les plus gros ont été souvent confondus avec des globules d'huile. »

Iwanoff (K. S.), Ueber *Trichothecium roseum* Link, als Ursache der Bitterfäule von Früchten. (*Zeitschr. f. Pflanzenkrank.*, **14**, 36 [1903].)

L'auteur mentionne la présence de gouttes d'huile; il n'a pas trouvé de glycogène.

Janczewski (E. de), Recherches sur le *Cladosporium herbarum* et ses compagnons habituels sur les Céréales. (*Bull. Acad. des Sc. Cracovie*, **27**, juin [1894].)

L'auteur parle d'une sclérotioïde de *Cladosporium*, dont les cellules intérieures sont gorgées d'huile grasse.

LAURENT (E.), Recherches sur le polymorphisme du *Cladosporium herbarum*. (*Ann. Inst. Pasteur*, **2**, 558 [1888].)

Sur le glycogène chez les différentes formes de *Cladosporium herbarum*, voyez p. 595.

MARCHAL (E.), Sur un nouveau *Rhopalomyces* : *Rh. macrosporus*. (*Revue mycol.*, janvier 1893.)

L'auteur mentionne du glycogène chez les spores de ce Champignon.

MARCHAL (E.), Contributions à l'étude du Champignon du caryopse des *Lolium*. (*Bull. Soc. roy. de Bot. de Belgique*, **41**, 2e partie, 61 [1902-1903].)

Les filaments du Champignon symbiotique des caryopses de *Lolium temulentum*, et dont la nature n'est pas connue, se colorent faiblement par l'iode et ne semblent pas renfermer beaucoup de réserves glycogéniques.

VESTERGREN (F.), Eine arktisch-alpine *Rhabdospora*. (*Bihang till K. Svenska Vet. Akad. Handl.*, **20** [1900].)

L'auteur a trouvé du glycogène dans les hyphes âgées de *Rhabdospora cercosperma* (Rostr.) Sacc., une Sphéropsidée arctique; les hyphes jeunes n'en renferment pas.

Les membranes sont formées de chitine.

L'auteur pense que cette « pycnide » appartient au discomycète *Heterosphaeria Patella*, var. *alpestris*.

WENT (F.), *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc., ein technischer Pilz Javas. (*Centralbl. f. Bakter., Parasitenk. u. Infektionskrankh.*, II. Abt., **7**, 544, 591 [1901].)

Pour ce Champignon, le glycogène est un assez bon aliment carboné : il produit une récolte de 36 milligrammes de substance sèche, alors que l'inuline n'en produit que 1 milligramme et la raffinose 293 milligrammes.

5. Mycorhizes.

BERNARD (N.), Conditions physiques de la tubérisation chez les végétaux. (*Comptes rendus*, 27 octobre 1902.)

L'auteur dit à propos de l'embryon de *Neottia* : « Toujours ces cellules

renferment un protoplasme à granules brunissant par l'iode, jamais je n'y ai trouvé d'amidon. »

Il montre aussi (p. 46) que l'amidon de *Neottia* n'est qu'en très faible partie consommé par la plante.

Treub (M.), Études sur les Lycopodiacées. (*Ann. Jard. bot. Buitenzorg*, **5**, 87 [1886].)

L'auteur indique du glycogène chez un Champignon commensal du prothalle de *Lycopodium Phlegmaria*.

6. Sclérotes.

Rothert (W.), Ueber *Sclerotium hydrophilum* Sacc., einen sporenlosen Pilz. (*Bot. Zeitschr.*, **50**, 321, 399 [1892].)

Pour la recherche du noyau, l'auteur recommande la cellule vivante (p. 362).

Svendsen (C. J.), Ueber ein auf Flechten schmarotzendes *Sclerotium*. (*Botaniska Notiser*, 1899, p. 219.)

Ce sclérote a perdu, comme *Sclerotium hydrophilum*, l'habitude de former des spores. L'auteur l'appelle *Sclerotium lichenicola* Svendsen ; il l'a trouvé sur divers lichens, surtout sur *Xanthoria parietina*.

Il y a dans le protoplasme du sclérote « viele und grosse Glykogentropfen ». Les hyphes peuvent, grâce à cela, être suivies aisément après traitement par l'IKI dans les tissus de l'hôte.

Le sclérote jeune est riche en glycogène. Dans l'état adulte, le glycogène est remplacé par de l'huile ; à la germination, l'huile disparaît.

GLYCOGÈNE ET “ PARAGLYCOGÈNE „

CHEZ

LES VÉGÉTAUX

PAR

L. ERRERA

ADDITIONS

A LA

Liste systématique des organismes dans lesquels M. L. Errera a recherché le glycogène et le paraglycogène.

En rangeant les papiers laissés par M. L. Errera, nous avons retrouvé des notes — autres que celles qui ont servi à dresser la *Liste systématique*, déjà publiée, — où M. L. Errera avait fait l'énumération des espèces étudiées par lui. Ces notes nous permettent de compléter notre première liste. J. M.

SCHIZOPHYTES.

Schizomycètes.

Bacillus Termo Trev.	Paraglycogène?
— *Amylobacter* Van Tieghem	Glycogène.
Rhizobium Leguminosarum d'*Erythrina Crista-Galli* .	Glycogène?
Spirillum volutans Ehrenberg	Pas de glycogène.

Schizophycées.

Nostoc commune Vaucher.	Pas de glycogène.



CHAMPIGNONS.

Phycomycètes.

ZYGOMYCÉTALES.

Mucoracées.

Syncephalis intermedia Van Tieghem	Probablement du glycogène.

Ascomycètes.

DISCOMYCÉTALES.

Pézizacées.

Peziza cochleata L. (Asques).	Glycogène.
Ascobolus Crouani Bond. (Asques)	Id.
— *Marchalii* Bommer et Rousseau (Asques). .	Id.
Helotium citrinum Fr. (Asques).	Id.

ASCOLICHENS.

Psoroma lentigera Koerb. (Spermogonies).	Probablement traces de glycogène.
Solorina saccata Ach.	Id.

Basidiomycètes.

PROTOBASIDIALES.

Urédinacées.

Endophyllum Sempervivi De Bary	Glycogène.
Æcidium Compositarum Mart?	Id. ?

Trémellacées.

Tremella intumescens Sm.	Pas de glycogène.
Tremellodon gelatinosus Schröt.	Glycogène.

AUTOBASIDIALES.

Clavariacées.

Clavaria cinerea Bulliard.	Pas de glycogène.
— *coralloides* L.	Id.
— *fuliginea*	Id

Lycoperdacées.

Geaster saccatus (Adulte).	Pas de glycogène.

HYPHOMYCÈTES.

Haplotrichum roseum Corda	Glycogène ?
Fusicladium dendriticum Fück.	Glycogène.

SCLÉROTES.

Sclerotium hydrophilum Rothert	Glycogène.

DESSINS

RELATIFS AU

GLYCOGÈNE ET AU PARAGLYCOGÈNE

FAITS PAR

Léo ERRERA

Nous publions ici les dessins de Léo Errera, que nous n'avions pas encore retrouvés lors de la publication de *Glycogène et « paraglycogène » chez les végétaux*. (Voir p. 343 de ce volume.)

Ces dessins ont été copiés avec la plus scrupuleuse fidélité. Pour rédiger leur explication, nous nous sommes servis des renseignements qui figuraient sur les dessins mêmes, et aussi, quand il le fallait, des notes manuscrites laissées par Léo Errera.

Les indications de page renvoient à ce volume.

J. M.

PLANCHE I.

MYXOMYCÈTES.

1. *Dictyostelium mucoroides* Brefeld (p. 369).

1 *a*. (390/1). Pseudoplasmode, traité par IKI [1]. On voit le noyau dans chacune des amibes constituantes; on voit aussi, par-ci par-là, les amibes périphériques pousser des prolongements hyalins qui ne se colorent pas par IKI.

1 *b*. (1100/1). Trois des amibes du bord du plasmode; l'une a poussé deux pseudopodes hyalins.

1 *c*. (770/1). Spores jeunes, riches en glycogène, plongées dans une matière fondamentale jaunissant par IKI. D'après Brefeld (*Abh. Senkenb. Ges.*, VII, p. 98), cette masse serait probablement formée d'impuretés accidentelles, englobées par les amibes lors de leur réunion et rejetées par le plasma au moment de la formation des spores.

1 *d*. (770/1). Spores mûres se colorant en jaune à peine brunâtre par IKI.

2. *Chondrioderma difforme* Pers (p. 370).

2 *a*. (570/1). Plasmode en voie de formation, traité par IKI.

2 *b*. (570/1). Plasmode formé, avec glycogène réparti uniformément dans le cytoplasme.

2 *c*. (570/1). Plasmode formé, avec glycogène localisé dans une portion assez nettement limitée.

3. *Brefeldia maxima* Fries (p. 370). Le plasmode renferme des sortes de vacuoles claires, ayant jusqu'à 1/4 de millimètre de diamètre, dont le contenu se

[1] IKI signifie une solution d'iode dans la solution aqueuse d'iodure de potassium. A moins d'indications contraires, le réactif contient 1/450 d'iode.

colore en rouge brun par l'iode, jaunit à froid et reprend la teinte primitive par le refroidissement. Ces vacuoles sont formées d'un substrat albuminoïde mélangé de glycogène. Le reste du plasmode et les spores ne renferment pas sensiblement de glycogène ($^{240}/_{1}$).

4. *Reticularia umbrina* Fries (p. 369).

4 *a, b, c, d, e* ($^{130}/_{1}$). Fragments de plasmode. La masse fondamentale, grossièrement granuleuse, contient deux sortes de vésicules : les unes (*a*) transparentes, homogènes, opalescentes, se colorant en brun-acajou par IKI; les autres (*b*), à contours finement granuleux, se colorant en jaune par IKI. La masse fondamentale devient jaune un peu rougeâtre par IKI, et cède un peu de glycogène par écrasement.

Les vésicules colorées en brun-acajou passent nettement au jaune à chaud et reviennent par le refroidissement à la teinte primitive. Si l'on écrase, surtout avant d'avoir chauffé et coagulé, la substance colorée en acajou se dissout dans le liquide ambiant. Les vésicules *a* sont donc de véritables vésicules à glycogène, comme celles de *Brefeldia* (fig. 3). — Elles possèdent une membrane d'enveloppe qui persiste après écrasement (*e*) en se plissant; son existence ne fait donc aucun doute.

Parfois une vésicule à glycogène renferme une portion de protoplasme granuleux (*c*), rappelant ainsi plus ou moins les spores de Truffe.

On trouve quelquefois des portions de protoplasme riches en glycogène (*d*), mais sans membrane nette; ce sont probablement des vésicules comme *a*, en voie de formation, qui vont séparer leur glycogène de la portion protoplasmique et entourer celui-là d'une membrane.

4 *f* ($^{1150}/_{1}$). Portion de plasmode en train de former des spores. On voit les spores jeunes, renfermant du glycogène, plongées dans une substance protoplasmique colorable en jaune et présentant une masse fondamentale homogène, des granulations de diverses grosseurs colorées de même, et de tout petits grains très foncés.

4 *g* ($^{1900}/_{1}$). Spores jeunes (encore incolores), hérissées sur la moitié de leur surface.

4 *h* ($^{1900}/_{1}$). Groupe de spores à peu près mûres, à paroi déjà brunâtre, dorsiventrales.

RHIZOPODES.

5. *Pinaciophora fluviatilis* (p. 358). Cellule avec grains de paraglycogène colorés par IKI à 1 °/₀ ($^{770}/_{1}$).

SCHIZOPHYTES.

6. *Merismopedia elegans* A. Braun (p. 347). Cellules traitées par IKI à 1 °/₀ ($^{1470}/_{1}$).

7. *Oscillatoria formosa* Bory (p. 346). Filament traité par IKI à 1 °/₀ ($^{1470}/_{1}$).

FLAGELLATES.

8. *Oxyrrhis marina* Dujardin (p. 348). Cellule traitée par IKI à 1 °/₀ ($^{300}/_{1}$).

9. *Gymnodinium* (provenant du fossé à *Ruppia*, à Nieuport). Traité par IKI à 1 °/₀ ($^{920}/_{1}$).

10. *Colacium vesiculosum* (p. 349). Cellules traitées par IKI à 1 °/₀ ($^{1470}/_{1}$).

SPOROZOAIRES.

11. *Stenocephalus Juli* Leidy (p. 359).

11 *a* ($^{260}/_{1}$). Individu jeune, avec paraglycogène dans le protomérite aussi bien que dans le deutomérite.

11 *b, c* ($^{260}/_{1}$). Individus plus âgés, n'ayant plus de paraglycogène dans le protomérite.

12. *Amoebidium parasiticum* Cienkowski (p. 360).

12 *a, b, c* ($^{1470}/_{1}$). Individus jeunes, ne présentant pas encore de réaction du paraglycogène. Dans **12** *c*, il y a déjà quatre noyaux.

12 *d* ($^{1470}/_{1}$). Individus avec grains de paraglycogène disséminés. Les noyaux se trouvent dans les portions sans paraglycogène.

12 *e* ($^{1470}/_{1}$) Paraglycogène réuni en grosses masses occupant l'axe du corps.

12 *f, g* ($^{1470}/_{1}$). Individus tués par IKI, décolorés pendant trois heures dans l'alcool absolu, puis lavés par l'eau, et enfin traités par IKI à 1 °/₀ (voir p. 365).

PLANCHE II.

Phycomycètes.

CHYTRIDIALES.

13. *Cladochytrium Hippuridis*, dans *Hippuris vulgaris* (p. 371).

13 *a*, *b* (570/1). Par IKI à 1/2 % (la concentration la plus favorable), on voit les restes de protoplasme des cellules attaquées se colorer en jaune, les plastides en jaune mordoré; ces plastides ont perdu leur amidon, tandis que dans les cellules voisines, non attaquées, les plastides renferment toujours un ou plusieurs grains d'amidon. Les minces hyphes mycéliennes se colorent en jaune; les toutes jeunes chlamydospores (ou *cystes Dauersporangien*) se colorent également en jaune (**13** *a*, cellule supérieure de gauche). Les chlamydospores plus avancées sont finement ou grossièrement granuleuses et se colorent en jaune orangé brunâtre (**13** *a*); en outre, une petite quantité d'huile qui se trouvait probablement mélangée au protoplasme a été expulsée par suite de la rétraction dans l'alcool, et emprisonnée entre le protoplasme et la membrane; cette huile se colore en jaune. Les chlamydospores presque mûres renferment beaucoup plus d'huile, qui s'agglomère en une ou plusieurs grosses gouttes (**13** *b*), se colorant par IKI en jaune légèrement orangé.

La coloration de la figure **13** *a* est probablement due à du glycogène, mais je n'ai pas réussi à obtenir de décoloration nette par la chaleur, même en chauffant fortement. Cela est peut-être dû à la faible quantité de glycogène intimement mélangé à du protoplasme. La présence de glycogène est en somme douteuse.

14. *Polyphagus Euglenae* Nowakowski (p. 367).

14 *a*, *b*, *c*, *d*, *e* (570/1). Les ampoules de *Polyphagus*, étendant leurs filaments vers les Euglènes, donnent une magnifique réaction de glycogène. Les toutes jeunes ampoules en renferment peu (**14** *a*); puis la quantité augmente de plus en plus (**14** *b*, *c*, *d*), jusqu'à ce qu'elles aient atteint leur plein développement et qu'elles donnent le sporange (**14** *e*). Ensuite on trouve tout le protoplasme et tout le glycogène dans le sporange, tandis que l'ampoule qui lui a donné naissance est vide.



Le glycogène est certainement amorphe dans *Polyphagus;* il y forme une masse fondamentale homogène dans laquelle sont plongés un grand nombre de grains étrangers, réfringents, incolores, généralement allongés. Par l'écrasement de matériaux frais colorés par IKI, on voit nettement le glycogène se répandre dans le liquide ambiant, en un nuage brun.

14 *f* (570/1). Individu en conjugaison? avec glycogène très abondant, en amas irréguliers, inégalement répartis. Le matériel avait été fixé par l'alcool; je le dois à l'obligeance de M. Dangeard.

MUCORALES.

15. *Phycomyces nitens* Kunze et Schmidt (p. 71).

15 *a* (280/1). Spore mûre.

15 *b* (280/1). Spore commençant à germer : du glycogène apparaît.

15 *c* (280/1). Germination : la spore contient du glycogène, mais non les filaments mycéliens.

15 *d* (280/1) Fin de la germination : la spore est vide.

16. *Mucor* sp.

16 *a* (180/1). Gros filament mycélien avec chlamydospore jeune, ayant une paroi en verre de montre.

16 *b, c* (280/1). Filaments mycéliens avec de jeunes chlamydospores, du type ordinaire.

16 *d* (280/1). Filament avec chlamydospore mûre; son contenu, très réfringent, jaunit par IKI.

17. *Pilobolus oedipus* Montagne (p. 372). Il y a beaucoup de glycogène dans le renflement basilaire qui supporte le jeune filament fructifère. Le point végétatif, c'est-à-dire le sommet de ce filament, ne renferme pas de glycogène (40/1).

18. *Mucor Mucedo* L. (p, 371).

18 *a* (95/1). Contenu d'une zygospore mûre dégagé par pression de l'exospore noire, en coupe optique. En dehors, l'endospore plissée. Puis, le protoplasme contenant du glycogène. Une grosse goutte d'huile occupe le milieu de la spore. On voit, au centre, une saillie sur l'exospore, correspondant au point d'insertion de l'une des branches copulatrices.

18 *b* ($^{95}/_{1}$). Contour d'une zygospore vue de côté pour montrer les insertions des deux branches copulatrices.

18 *e* ($^{280}/_{1}$). Une des insertions vue à un plus fort grossissement.

SAPROLÉGNIALES.

19. *Achlya polyandra* De Bary (p. 371).

19 *a, b, c* ($^{770}/_{1}$). Dans sa partie végétative, cette plante ne donne par IKI qu'une réaction purement jaune (**19** *a*) de son protoplasme assez grossièrement granuleux. Mais quand un filament se prépare à devenir zoosporange, il s'y accumule petit à petit, très graduellement, une quantité à la fin considérable de petits grains réfringents, arrondis, incolores, mesurant 0,4 μ à 0,8 μ de diamètre et localisés strictement à la périphérie du protoplasme. Ces grains se colorent en rouge foncé par IKI à $^{1}/_{450}$ (**19** *b*). On les retrouve aussi dans les spores immobiles (**19** *c*); de même, quoique moins abondants, dans les zoospores mobiles, à cils latéraux, après la mue.

La coloration rouge de ces grains, bien mis au point, est incontestable; mais comme ils sont très réfringents, ils paraissent clairs, jaunâtres, quand on monte la vis. Outre ces grains, il y en a d'autres, plus gros, qui se colorent seulement en jaune par l'iode.

Parfois la partie du protoplasme qui présente les grains rouges, et qui paraît par conséquent plus foncée, est environnée d'une couche externe de protoplasme purement jaune : la partie foncée occupe alors l'axe du filament que tapisse le protoplasme à réaction jaune. Cet état rappelle celui qui se voit chez *Saprolegnia* (voir fig. **20** *a*). La partie foncée est nettement celle qui sert à former les zoospores.

Je lave à l'eau; les grains rouges ne pâlissent pas. J'ajoute alors graduellement de l'acide sulfurique : les membranes cellulaires se colorent en beau bleu pâle; le contenu protoplasmique gonfle; il était rétracté, il remplit de nouveau tout le filament; les grains ne changent pas d'aspect ni de teinte; tout le protoplasme de la région où sont les grains prend une nuance brunâtre; la membrane cellulaire gonfle, se sépare en deux couches, s'étire énormément dans la région apicale et finit par éclater et se dissoudre. Les grains rouges se dissolvent peu à peu sans présenter de changement de couleur.

Outre les grains rouges, il y a dans les jeunes zoosporanges une matière intimement mélangée au protoplasme et se colorant en brun-acajou par IKI à $^{1}/_{450}$ (**19** *b*). Si l'on chauffe modérément, ni cette teinte ni les grains ne changent. A un chauffage assez fort, pas loin de l'ébullition, les grains rouges disparaissent tout à fait et ne reparaissent plus par le refroidissement, même par l'addition d'iode à 1 %: ils n'y sont plus; la teinte brun jaunâtre pâlit et revient par le



refroidissement. Ces différences ne sont pas très marquées, mais elles ne m'ont pas laissé de doute quant à la réalité du phénomène.

Si l'on traite par IKI à 1 °/o, puis qu'on lave avec IKI à $^1/_{450}$, la teinte fondamentale est brun rougeâtre, et les changements de teinte à chaud et à froid sont encore plus nets. Bien que l'écrasement ne m'ait pas donné de résultats nets, je pense qu'il faut conclure à l'existence de petites quantités de glycogène, ou d'un corps analogue n'en différant que par une température de décoloration plus élevée; ce corps est très intimement mélangé au protoplasme.

L'écrasement rend manifeste l'existence dans le protoplasme de beaucoup d'huile qui s'échappe en nombreuses gouttelettes et n'est colorée qu'en jaune. Après cette sortie de l'huile, on obtient encore par IKI à 1 °/o la coloration brune un peu rougeâtre, qui passe au jaune brun à chaud et reprend sa nuance par le refroidissement.

Si l'on colore les filaments frais par IKI, puis qu'on traite par la potasse, tout le protoplasme se décolore et gonfle. Mais les grains rouges restent les derniers colorés, ne gonflent pas et se dissolvent peu à peu. Après cela, le lavage à l'eau et à l'acide acétique, et l'addition d'iode, même à 1 °/o, ne fait pas réapparaître les grains; mais les régions qui avaient, avant l'emploi de la potasse, une coloration brun jaune rougeâtre, la présentent de nouveau nettement. Cette teinte pâlit certainement à chaud et revient avec son intensité première par le refroidissement.

20. *Saprolegnia Thureti* De Bary (p. 371).

20 *a* ($^{280}/_1$). Filament en train de former un zoosporange. La masse principale se colore en rouge brun, mais le protoplasme périphérique forme un liséré jaune d'or, qui s'élargit au coin inférieur de droite. La coloration ne pâlit qu'à une température assez élevée et ne revient plus aussi nettement par le refroidissement. Par l'écrasement, pas de nuage d'aucune sorte.

20 *b* ($^{1350}/_1$). Portion de protoplasme expulsée par écrasement d'un zoosporange en voie de formation. Le protoplasme coloré en jaune par IKI contient des grains qui se colorent en brun rouge.

20 *c* ($^{750}/_1$). Jeune zoosporange au moment de la formation des spores, traité par IKI. On voit les masses qui formeront les zoospores se détacher en brun rouge sur le fond jaune du protoplasme. Sous le sporange, le contenu du filament se colore aussi en jaune.

PLANCHE III.

Ascomycètes.

21. *Saccharomyces cerevisiae* Meyen (pp. 25, 125).

21 A ($^{825}/_{1}$). Culture dans glycose à 10 %, bien nourrie, renfermant beaucoup de glycogène. Traitée par IKI à $^{1}/_{450}$.

21 B ($^{825}/_{1}$). Culture dans moût de bière, ne renfermant presque pas de glycogène. Traitée par IKI à $^{1}/_{450}$.

22. *Sphaerotheca Castagnei* Lév. (p. 374).

22 *a* ($^{390}/_{1}$). Filaments d'oïdies en voie de développement. Le glycogène s'accumule dans les jeunes oïdies, puis disparaît quand les spores mûrissent. Traités par IKI à $^{1}/_{450}$.

22 *b, c, d, e, f, g, h* ($^{390}/_{1}$). Oïdies détachées en voie de maturation. Traitées par IKI à $^{1}/_{450}$.

23. *Uncinula spiralis* Berk. et Curt. (p. 374).

23 *a, b, c* ($^{280}/_{1}$). Oïdies à divers âges. Les très jeunes (*a*) ne contiennent pas encore du glycogène; celui-ci est abondant dans les oïdies plus âgées (*b*), mais les mûres n'en contiennent plus (*c*).

24. *Penicillium glaucum* Link (p. 374).

24 *a* ($^{470}/_{1}$). Fragment de mycélium toruleux cultivé *dans* le liquide. Glycogène dans les cellules.

24 *b* ($^{470}/_{1}$). Rameau conidifère. Le glycogène est surtout abondant dans les cellules qui portent les chapelets de spores.

24 *c* ($^{470}/_{1}$). Fragment de mycélium toruleux (avec glycogène) se continuant avec du mycélium ordinaire (sans glycogène).

25. *Kickxella alabastrina* Coemans (p. 374).

25 *a* ($^{95}/_{1}$). Partie inférieure d'un filament dressé et filaments mycéliens. Traités par IKI. Les filaments mycéliens sont très riches en glycogène. Dans le filament dressé, le glycogène s'accumule parfois près des parois transversales.

25 *b* ($^{95}/_{1}$) Filament conidifère, traité par IKI. Un rameau latéral a sa cellule supérieure, en pleine croissance, complètement dénuée de glycogène; les cellules inférieures en renferment. — Les spores formées dans la coupe conidifère sont déjà tombées, et aucune des cellules de la coupe n'a plus la moindre trace de glycogène.

25 *c*. Spores en voie de formation. Elles naissent sur les deux cellules inférieures des ramuscules qui forment la paroi de la coupe. Ces deux cellules ainsi que les jeunes conidies renferment du glycogène. — La cellule inférieure du filament dressé est chargée de glycogène : elle va sans doute donner naissance à un rameau.

26. *Peziza badia* Pers. (p. 373).

26 *a* ($^{280}/_{1}$). Diverses cellules du tissu d'un exemplaire jeune; la quantité de glycogène est fort variable.

26 *b* ($^{280}/_{1}$). Filament radical adulte; son protoplasme réfringent se colore en jaune, avec un peu de glycogène seulement à la base; la cellule précédente renferme plus de glycogène.

26 *c* ($^{280}/_{1}$). Asque jeune, vers le moment de la formation des spores. Glycogène homogène, brillant; en haut, protoplasme granuleux.

26 *d* ($^{280}/_{1}$). Asque un peu plus âgé.

26 *e* ($^{280}/_{1}$). Asque mûr, ne contenant plus de glycogène.

26 *f* ($^{280}/_{1}$). Paraphyse, sans glycogène.

26 *g* ($^{550}/_{1}$). Spores presque mûres.

26 *h* ($^{550}/_{1}$). Spores mûres, n'ayant plus de glycogène.

27. *Peziza venosa* Pers. (p. 373). Jeune asque, avec glycogène abondant ($^{280}/_{1}$).

28. *Peziza vesiculosa* Bull. (pp. 9, 13).

28 *a, b, c, d, e* ($^{95}/_{1}$). Stades successifs de la formation des spores dans l'asque.

28 *f* ($^{280}/_{1}$). Spores presque mûres.

28 *g* ($^{280}/_{1}$). Spore mûre, sans glycogène, entourée d'une couche mucilagineuse hyaline, ne se colorant pas par IKI.

29. *Geoglossum hirsutum* Pers. (p. 372). Asque très jeune ($^{280}/_{1}$).

30. *Stigmatomyces Muscae* (p. 344).
Glycogène abondant dans le réceptacle. Il y en a aussi un peu dans le périthèce et dans l'appendice ($^{570}/_{1}$).

PLANCHE IV.

Ascomycètes *(suite).*

31. *Ascobolus immersus* Pers. (p. 373).

31 *a* ($^{130}/_1$). Très jeune exemplaire frais, bouilli avec potasse, puis traité par glycérine, acide acétique, potasse, eau, IKI à $^1/_{450}$.

Coupe optique. Quelques cellules de l'enveloppe externe renferment du glycogène, ainsi que quelques cellules du tissu fondamental. Le glycogène est surtout abondant dans l'hyménium.

31 *b* ($^{280}/_1$). Quelques filaments ascogènes isolés, de la préparation précédente; ils sont remplis de glycogène et portent de jeune asques encore sans glycogène.

31 *c* ($^{280}/_1$). Asque jeune, avec noyau non encore divisé.

31 *d* ($^{280}/_1$). Asque demi-mûr, en coupe optique. Encore beaucoup de glycogène dans l'asque.

31 *e* ($^{280}/_1$). Spore demi-mûre. Protoplasme assez réfringent, devenant jaune pur par IKI. Près du noyau, gros amas réniformes de glycogène.

31 *f* ($^{280}/_1$). Spores demi-mûres. Dans ce protoplasme, petits amas de glycogène irrégulièrement disséminés.

32. *Ascobolus aerugineus* (p. 373).

32 *a* ($^{280}/_1$). Cellules de l'enveloppe pseudo-parenchymateuse, traitées par IKI. La couche périphérique s'est colorée en jaune brunâtre (faible réaction de glycogène). Dans la vacuole centrale s'est manifestée d'abord une teinte violacée, puis un précipité granuleux très net, violet foncé, formé de grains irrégulièrement anguleux, qui, petit à petit augmentent en quantité et finissent par remplir complètement la vacuole.

32 *b* ($^{280}/_1$). Cellules pseudo-parenchymateuses du tissu interne, traitées par IKI. Leur contenu, fort réfringent, donne une forte réaction de glycogène.

33. *Ascobolus pilosus*, var. *ciliatus* (p. 373).

33 *a* ($^{280}/_1$). Asque tout à fait jeune, ne donnant encore qu'une réaction jaune par l'iode. Noyau encore unique.

33 *b* ($^{280}/_1$). Asque jeune. Première apparition du glycogène à la base de l'asque. On aperçoit les ébauches de huit spores.

33 *c* ($^{280}/_1$). Asque plus jeune que le précédent, n'ayant encore que quatre noyaux.

33 *d* ($^{280}/_1$). Asque plus âgé.

33 *e* ($^{280}/_1$). Asque à demi-mûr, au moment de la plus grande accumulation de glycogène.

33 *f* ($^{280}/_1$). Asque à demi-mûr; le glycogène commence à disparaître.

33 *g* ($^{280}/_1$). Asque presque mûr.

33 *g'* ($^{725}/_1$). Une spore de l'asque précédent : elle contient deux petits amas de glycogène.

33 *h* ($^{280}/_1$). Asque mûr, ne possédant plus la moindre trace de glycogène.

34. *Sordaria?* Très jeune individu, rendu transparent par la potasse, puis lavé à l'eau et traité par IKI. Coupe optique montrant le glycogène dans les cellules internes ($^{390}/_1$).

35. *Sordaria fimicola* Ces. et de Not. (p. 374). Extrémité d'un asque presque mûr, traité par IKI. Disques de glycogène amorphe entre les spores et près du sommet de l'asque ($^{280}/_1$).

36. *Chaetomium comatum* Tode (p. 374). A gauche, spore jeune, dont le protoplasme écumeux ne se colore qu'en jaune par IKI. Au milieu, spores demi-mûres, avec glycogène irrégulièrement distribué. A droite, spore adulte, n'ayant plus de glycogène ($^{500}/_1$).

Basidiomycètes.

PROTOBASIDIALES.

37. *Puccinia fusca* Relhan (p. 375). Téleutospores et spermogonies sur feuille d'*Anemone nemorosa*. Glycogène dans l'assise sous-hyméniale ($^{40}/_1$).

38. *Endophyllum Sempervivi* de Bary. Filaments sporifères et spores traités par IKI à $^1/_{250}$. Les portions colorées en brun contiennent certainement du glycogène, ainsi qu'on s'en assure par l'échauffement : la teinte pâlit, puis revient par le refroidissement ($^{390}/_1$).

AUTOBASIDIALES.

39. *Hydnum coralloides* Scop. (p. 376).
Portions de filaments frais, traités par IKI. Beaucoup de glycogène ($^{280}/_1$).

40. *Polyporus umbellatus* Fr. (p. 376).
Portions de filaments du stipe jeune et du chapeau jeune, traités par IKI ($^{390}/_1$).

41. *Lactarius vellereus* Fr. (p. 377).

41 *a* ($^{280}/_1$). Fragment de laticifère du chapeau, avec protoplasme granuleux, jauni par IKI, et un amas de glycogène.

41 *b* ($^{280}/_1$). Quelques cellules d'un tissu pseudo-parenchymateux.

41 *c* ($^{280}/_1$). Portions de filaments du réseau qui entoure le tissu pseudo-parenchymateux.

42. *Lycoperdon Bovista* L. (p. 378).
Coupe à travers la partie basilaire (près du sol) d'un exemplaire jeune. Les filaments minces, formant un feutrage dense, ne se colorent pas par IKI. Mais les filaments plus gros, ramifiés de place en place, qui circulent à travers le feutrage, se colorent en brun, tant qu'ils ont une paroi mince; plus tard, quand leur paroi s'est épaissie, ils ne se colorent plus. La coloration ne pâlit pas nettement par la chaleur. Il se peut que ce soit une petite quantité de glycogène mélangée intimement au protoplasme ($^{95}/_1$).

43. *Geaster rufescens* Pers. (p. 378).
Quelques cellules de la couche de pseudo-parenchyme, avec des restes de glycogène ($^{280}/_1$).

44. *Phallus impudicus* L. (p. 96, 103).
Cellules d'un même pédicelle, plasmolysées par nitrate de potassium à 10.1 %, puis tuées par IKI. On voit nettement que le glycogène est tantôt dans une grande vacuole (4e cellule); tantôt dans le protoplasme, laissant une vacuole claire (1re et 3e cellules); tantôt enfin il y a des amas de glycogène entre le protoplasme et la vacuole (2e cellule) ($^{570}/_1$).

PLANCHE V.

SCLÉROTES.

45. *Sclerotinia tuberosa* (p. 373).

Coupe à travers un sclérote. Sous l'écorce noire et la partie périphérique aérifère de la moelle, les filaments de la moelle interne contiennent du glycogène ($^{21}/_1$).

HYPHOMYCÈTES.

46. *Botryosporium pulchrum* Corda (p. 378).

Filament conidifère. Le sommet, en voie de croissance, ne contient pas de glycogène. Celui-ci est abondant dans la région où naissent les rameaux produisant les spores. Vers la base, la quantité de glycogène diminue ($^{80}/_1$).

47. *Dematium sp.* (379).

Les cellules des gros filaments cloisonnés de cette espèce, qui s'est développée dans de la glycose à 10 %, se sont en quelque sorte encystées, à la façon des chlamydospores de *Mucor* (voir fig. 16). On y trouve de grosses gouttes d'huile, très réfringentes, qui jaunissent par l'iode; autour d'elles se produit une forte coloration rouge-acajou par IKI; la coloration disparaît nettement à chaud et reparaît par le refroidissement. Mais je n'ai pas pu dissoudre par l'écrasement cette matière colorée, de sorte que je ne suis pas sûr qu'il s'agisse là d'une substance soluble. Dans certains cas, au moins, la coloration tient à la membrane, mais dans d'autres il se peut qu'il y ait du glycogène en jeu ($^{390}/_1$).

MYCORHIZES.

48. Mycorhizes de *Myrmechis gracilis* (Orchidacée de la forêt de Tjibodas, à Java).

Le Champignon vit dans les cellules du rhizome. Il forme des pelotes assez lâches, riches en glycogène pendant leur plein développement (cellule de gauche). Puis les filaments se vident et ne contiennent plus qu'un peu de proto-

plasme qui se colore en jaune par IKI (cellule de droite). Enfin les filaments dégénèrent et ne constituent plus qu'une masse informe ($^{400}/_{1}$).

49. Mycorhizes de *Coeloglossum viride.*

49 *a* ($^{400}/_{1}$). Cellule avec mycélium jeune et riche en glycogène, traitée par IKI à $^{1}/_{450}$.

49 *b* ($^{400}/_{1}$). Cellule contiguë à la précédente, mais avec mycélium pauvre en glycogène, traitée par IKI à $^{1}/_{450}$.

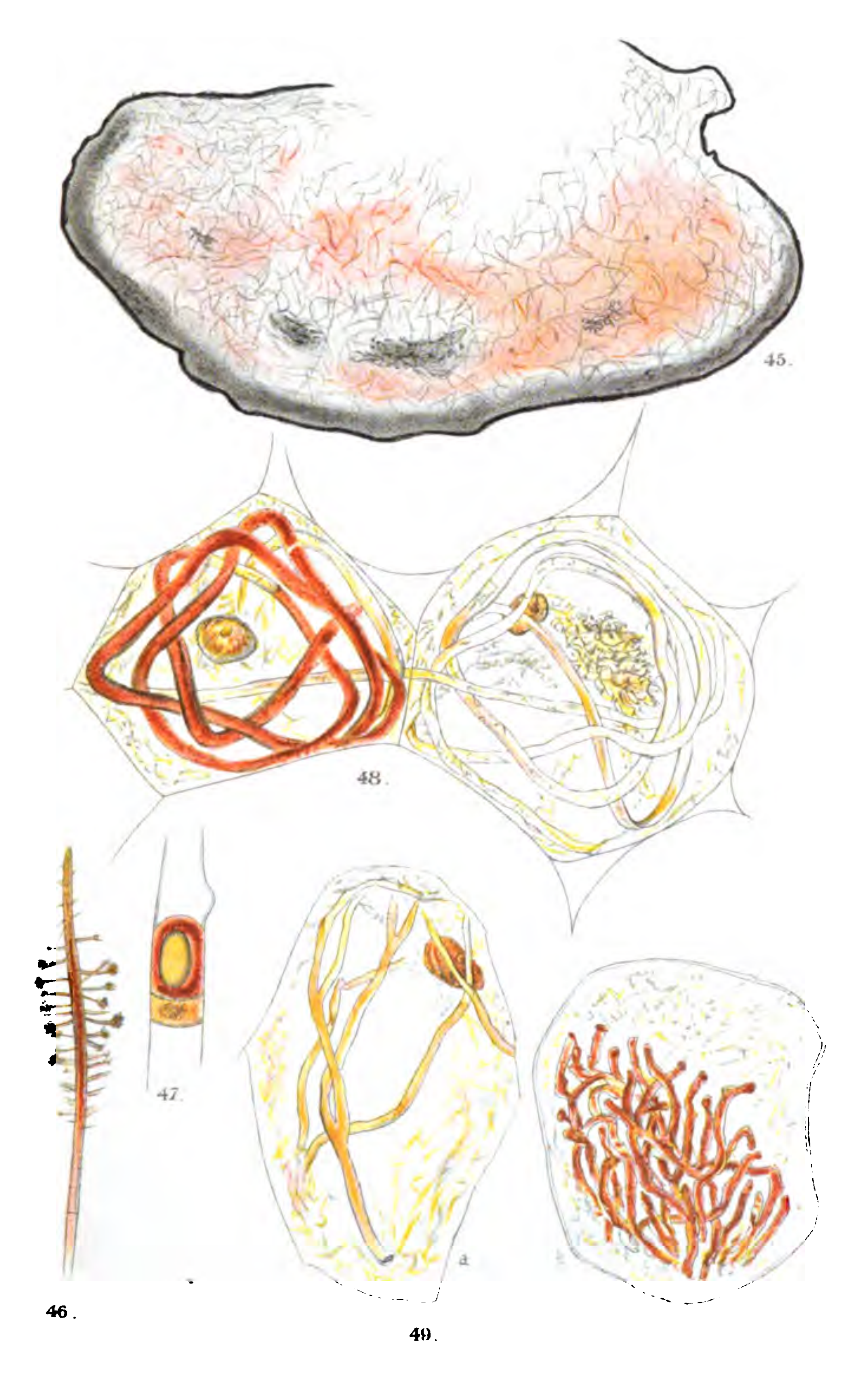
PLANCHE I.

PLANCHE II.

Recue

PLANCHE III.

PLANCHE IV.



Auctor delin.

Chromolith. J. L. GOFFART, Bruxelles

PLANCHE V.

